

Quantitative Untersuchungen zur Gewebekonkurrenz auf verschiedenen Differenzierungsebenen



Diplomarbeit

Humboldt-Universität zu Berlin
Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät
Institut für Grundlagen der Pflanzenproduktion
Fachgebiet Pflanzenzüchtung

eingereicht von Uwe Schneider

Betreuer: Prof. Dr. sc. Frank Pohlheim

Berlin, Dezember 1995

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	6
2	Gewebekonkurrenz - Terminologie	7
2.1	Was ist Gewebekonkurrenz ?	7
2.2	Gewebekonkurrenz in der Literatur	8
2.3	Kritik	9
3	Material und Methoden	11
3.1	Material	11
3.1.1	<i>Sansevieria</i> THUNB.	11
3.1.1.1	<i>Sansevieria trifasciata</i> PRAIN ‘Laurentii’	11
3.1.1.2	<i>Sansevieria trifasciata</i> PRAIN ‘WGG-Mutante’	12
3.1.2	<i>Peperomia obtusifolia</i> (L.) A. DIETER	12
3.1.2.1	<i>Peperomia obtusifolia</i> ‘Golden Gate’	12
3.1.2.2	<i>Peperomia obtusifolia</i> ‘GWG-Mutante’	13
3.1.3	<i>Pelargonium zonale</i> (L.) L’HERIT. ex AIT. ‘Rosa Liebling’	13
3.2	Methoden	14
3.2.1	Nachweis genetischer Unterschiede	14
3.2.2	Quantitative Erfassung von Gewebemerkmale	15
3.2.2.1	Gewebeschnitte	15
3.2.2.2	Meßmethoden	17
3.2.3	Histogenetische Markierung	20
4	Ergebnisse	21
4.1	<i>Sansevieria trifasciata</i>	21
4.1.1	Untersuchungen im Bereich der Sproßspitze	21
4.1.1.1	Qualität der Paraffin- und Kunststoffeinfettung	21
4.1.1.2	Mikroskopische Analyse der Präparate	22
4.1.2	Untersuchungen im Bereich des ausdifferenzierten Blattes	26
4.1.2.1	Blattmessungen	27
4.1.2.2	Zellzählungen	33
4.1.2.3	Größenmessungen an einzelnen Zellen	34
4.1.2.4	Untersuchungen an Meriklinalchimären	38
4.2	<i>Peperomia obtusifolia</i>	41
4.3	<i>Pelargonium zonale</i>	44

5	Diskussion	47
5.1	Der Prozeß der Gewebekonkurrenz	47
5.2	Ursachen der phänotypischen Besonderheiten bei ‘Laurentii’ und ‘Golden Gate’	48
5.3	Sporophytische Balancierung bei ‘Laurentii’	49
5.3.1	Richtung der Verdrängungsprozesse	49
5.3.2	Einfluß der Farbmarkierung	49
5.3.3	Druckverhältnisse im Sproßscheitel	50
5.3.4	Änderungen in der Zellteilungsgeschwindigkeit	51
5.3.5	Zeitpunkt erster Verdrängungswirkungen	52
5.3.6	Quantitatives Ausmaß	53
5.3.7	Kontinuität	54
5.4	Fragestellungen für weiterführende Arbeiten	56
6	Zusammenfassung	57
	Literaturverzeichnis	59
	Selbständigkeitserklärung	
	Danksagung	

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 4.1	Vergleich der Kerngrößen in Sproßscheitelquerschnitten von ‘Laurentii’	23
Tabelle 4.2	Bestimmung des L1-Randanteiles an Querschnitten von jungen Blättern	25
Tabelle 4.3	Vergleich der Regressionen (‘Laurentii’)	29
Tabelle 4.4	Regressionsergebnisse für Modell (1)	31
Tabelle 4.5	Regressionsergebnisse für Modell (2)	31
Tabelle 4.6	Mittelwerte der Schließzellenanalysen an <i>Peperomia obtusifolia</i>	42

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 2.1	Einteilung der Gewebekonkurrenz	10
Abb. 3.1	<i>Sansevieria trifasciata</i> - ‘WGG-Mutante’ - ‘Laurentii’	11
Abb. 3.2	<i>Peperomia obtusifolia</i> - ‘GWG-Mutante’ - ‘Golden Gate’	13
Abb. 3.3	Größe und Form der Epidermiszellen von <i>Sansevieria trifasciata</i> in Abhängigkeit von der gewählten Betrachtungsebene	18
Abb. 3.4	oben: Querschnitt aus Blatt-Übergangsbereich von <i>Sansevieria</i> unten: Simultane Größenmessungen von Epidermis- und Mesophyllzellen an Epidermisabschnitten bei <i>Sansevieria</i>	19
Abb. 4.1	Längsschnitt durch die Sproßscheitelregion von ‘Laurentii’	22
Abb. 4.2	Längsschnitt durch die Sproßscheitelregion von ‘WGG-Mutante’	22
Abb. 4.3	Ausschnitt aus Querschnittspräparat Q7/4 von ‘Laurentii’ oben: Übersicht unten: Randbereich der zweiten Blattanlage mit eingezeichneter Trennlinie zwischen L1- und L2-bürtigem Gewebe	24
Abb. 4.4	Messungen an Blattanlagen in Sproßscheitelquerschnitten von ‘Laurentii’ zur prozentualen Bestimmung der L1-Komponente	25
Abb. 4.5	Sproßscheitel von ‘Laurentii’ (Längsschnitt) mit teilweisem Durchbruch der L1 in die zweite Schicht	26
Abb. 4.6	‘Laurentii’ im Köpenicker Bestand	27
Abb. 4.7	Regressionsanalysen zu ‘Laurentii’ ① L1-bürtiger Rand - Blattlänge ② L1-bürtiger Rand - Blattbreite ③ Blattbreite - Blattlänge	28
Abb. 4.8	Abhängigkeit der Breite des L1-bürtigen Randes von der Blattbreite	30
Abb. 4.9	Histogramm zur L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung im ausdifferenzierten Blatt	32
Abb. 4.10	Messungen der Blattdicke in der Übergangszone von diploid, grünem zu tetraploid, weiß-gelbem Gewebe bei ‘Laurentii’	33
Abb. 4.11	Häufigkeitsverteilungen für Zellzählungen über weiß-gelben Rand links: ‘WGG-Mutante’ rechts: ‘Laurentii’	33
Abb. 4.12	Längen- und Breitenmessungen an Epidermis- und Mesophyllzellen	35

Abb. 4.13	Übergangsbereich im Blattmesophyll (Palisadenschicht) oben: 'Laurentii' unten: 'WGG-Mutante' (unterschiedliche Vergrößerungen)	35
Abb. 4.14	Ausschnitte aus Blattquerschnitten bei 'Laurentii' oben: weißer Bereich unten: grüner Bereich (gleiche Vergrößerung)	36
Abb. 4.15	Vergleich der Epidermiszellen zwischen 'Laurentii' und 'WGG-Mutante'	37
Abb. 4.16	Mesophyllzellenvergleich an 'Laurentii'	37
Abb. 4.17	Meriklinalchimäre von <i>Sansevieria</i> links: Epidermisabzug rechts: Phänotyp eines Blattes	38
Abb. 4.18	Kolchizinierte <i>Sansevieria</i> links: Epidermis mit mehreren Ploidiegrenzen rechts: di- und tetraploide Stomata	39
Abb. 4.19	Tetraploider Gewebestreifen mit scharfer Abgrenzung zu diploidem Gewebe (rechts) und eher fließendem Übergang (links)	40
Abb. 4.20	Häufigkeitsverteilung der Verdrängung tetraploiden Gewebes	40
Abb. 4.21	Blätter von <i>Peperomia obtusifolia</i> - 'Golden Gate' (links) - 'GWG-Mutante' (rechts)	41
Abb. 4.22	<i>Peperomia obtusifolia</i> 'Golden Gate' oben: Querschnitt durch junges Blatt unten: Längsschnitt	42
Abb. 4.23	Chromosomenzählung in L1-bürtigem Gewebe von 'Golden Gate' links: Anzucht L1-bürtiger Wurzelspitzen rechts oben: Chromosomen-Originalaufnahme rechts unten: grafisch aufgearbeitetes Schema	43
Abb. 4.24	Blütenblattmessungen bei <i>Pelargonium zonale</i> 'Rosa Liebling'	44
Abb. 4.25	Vergleich der Petalenlänge von 'Rosa Liebling'	45
Abb. 4.26	Vergleich der Petalenbreite von 'Rosa Liebling'	46
Abb. 4.27	Vergleich der Breite des weißen Randes an Petalen von 'Rosa Liebling'	46
Abb. 5.1	Induktion einer periklinen Teilung in der L1 durch seitlichen Druck der Nachbarzellen (Schema)	51
Abb. 5.2	oben: relativ späte perikline Teilung in der Epidermis (nahe Blattrand) eines jungen Blattes von 'Laurentii' unten: mögliche Auswirkungen im ausdifferenzierten Blattstadium	52
Abb. 5.3	Rückgang des L1-bürtigen Randes im ausdifferenzierten Blatt	55

1 EINFÜHRUNG

Pflanzenzüchtung ist die gezielte genetische Veränderung vieler Wild- und Kulturpflanzen durch den Menschen und zum Nutzen des Menschen. Eine der wichtigsten Grundsäulen der Züchtung ist die genetische Variabilität. Je verschiedenartiger eine Population ist, um so größer sind die Möglichkeiten, Neues zu entwickeln. In der vielleicht zehntausendjährigen Geschichte der Pflanzenzüchtung ist durch fortgesetzte Auslese die natürlich vorhandene Variabilität vieler Pflanzenarten häufig bereits ausgeschöpft.

Fortpflanzungsbarrieren verhindern die Überwindung der "genetischen Eintönigkeit" in der Kreuzungs- und Kombinationszüchtung. Bessere Aussichten eröffnen sich in jüngeren Züchtungsverfahren wie der Mutationszüchtung und der gezielten Genübertragung. Hier werden der Neustrukturierung von Genen/Genomen wenig Schranken gesetzt. Während Mutationseffekte stark dem Zufall unterliegen, lassen sich bei gezieltem Gentransfer gewünschte Effekte mit einer hohen Wahrscheinlichkeit erreichen.

Untrennbar verbunden mit Mutationsereignissen oder Genübertragungen sind Fragen nach somaklonaler Variabilität und Gewebekonkurrenz. Mutierte oder genetisch manipulierte Pflanzen zeigen in ihrer weiteren vegetativen Entwicklung oft Veränderungen von Eigenschaften. Durch die sogenannte "Diplontische Selektion" können wertvolle Merkmalsmutationen schon nach kurzer Zeit wieder verdrängt werden. Um dies zu vermeiden, ist die Kenntnis der dieser Verdrängung zugrundeliegenden Prinzipien eine wichtige Voraussetzung. Außerdem dient das Wissen über die ablaufenden Vorgänge dem besseren Verständnis der pflanzlichen Ontogenese.

Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, Verdrängungsprozesse von Geweben zu erfassen und wenn möglich quantitativ zu analysieren. In Kapitel zwei wird zunächst eine kurze Literaturübersicht gegeben. Gleichzeitig soll an dieser Stelle die aktuelle Terminologie der Gewebekonkurrenz und deren historische Entwicklung diskutiert werden. Nach Beschreibung des Versuchsmaterials und der verwendeten Methoden in Kapitel drei, werden in Kapitel vier die Ergebnisse der durchgeführten Analysen dargestellt. Durch fotografische Abbildungen, Zeichnungen und Diagramme werden die gewonnenen Erkenntnisse belegt und veranschaulicht. In Kapitel fünf erfolgt die Diskussion der Ergebnisse und damit auch ihre Vereinbarkeit mit bestehenden Theorien.

Die Arbeit fügt sich ein in einen Komplex anderer Arbeiten, die vor allem am gleichen Institut schon durchgeführt wurden oder sich gerade in Bearbeitung befinden. Ziel ist es, Baustein für Baustein zu sammeln, zu dokumentieren und an gegebener Stelle zusammenzusetzen. In diesem Sinne soll auch der Beitrag dieser Arbeit verstanden werden.

2 GEWEBEKONKURRENZ - TERMINOLOGIE

2.1 Was ist Gewebekonkurrenz ?

Gewebekonkurrenz im weiteren Sinn ist der Wettstreit zwischen verschiedenen Zellverbänden (Gewebe) schlechthin. Im engeren Sinn (in dieser Arbeit) bezieht sich Gewebekonkurrenz auf den Wettstreit zwischen genetisch unterschiedlichen Zellverbänden.

Wie kommt es zum gleichzeitigen Auftreten von genetisch unterschiedlichen Geweben innerhalb eines Organismus?

Bestimmte, in der Natur allgemein angewendete Mechanismen führen zu genetisch einheitlichen Organismen (alle Zellen besitzen die gleiche genetische Information). Zu diesen Mechanismen zählt insbesondere die in der vegetativen Entwicklungsphase vorherrschende mitotische Kernteilung mit identischer Replikation der DNS.

Abweichungen von der idiotypischen Einheitlichkeit sind durch Mutationen möglich. Diese können spontan auftreten, aber auch durch Röntgenbestrahlungen oder chemische Mutagene (NMH, u.v.a.). induziert werden. In der Regel ereignen sich Mutationen in einem mehrzelligen Stadium, in dem mehrere aktive Teilungszellen das Wachstum der Pflanze bestimmen. Höchst unwahrscheinlich ist, daß alle Teilungszellen mutieren; geradezu ausgeschlossen werden kann der Fall, daß die Mutationen in allen Teilungszellen in der gleichen Weise erfolgen. Dies belegen zahlreiche Mutationsexperimente (GAUL, 1957 u.a.).

In der weiteren Entwicklung eines mutierten Organismus kommt es also zu einer Koexistenz genetisch unterschiedlichen Gewebes. Solange die Pflanze vegetativ wächst, können alle nach der Mutation auftretenden Genotypen erhalten bleiben. Spätestens bei der generativen Vermehrung, die ja ein einzelliges Stadium (Zygote) durchläuft, wird jedoch die genetische Einheitlichkeit wieder "erzwungen".

Organismen mit idiosyncratisch unterschiedlichen Gewebeanteilen bezeichnet man als Chimären. Bei Pflanzen unterscheidet man u.a. Sektorial-, Periklinal- und Meriklinalchimären. Eine ausführliche Beschreibung dieser Typen findet sich u.a. bei TILLNEY-BASSET (1990).

2.2 Gewebekonkurrenz in der Literatur

Das Phänomen der Gewebekonkurrenz wird in der Pflanzenzüchtung seit der Einführung der Mutationszüchtung beschrieben. Nach “erfolgreicher“ Mutation kommt es in der weiteren Entwicklung der M1-Generation häufig zu einer Abnahme der mutierten Gewebebereiche pro neugebildetem Gewebe (KAPLAN, 1951; GAUL, 1957). Es handelt sich dabei um eine Verdrängung der mutierten Zellen und Zellbereiche durch nichtmutierte. Mutierte Zellen sind in der Entwicklung oft benachteiligt; sei es, daß diese Zellen tödlich geschädigt oder daß sie nur in der Zellteilungsrate benachbarten Zellen unterlegen sind und dadurch verdrängt werden.

Erste Hinweise auf eine solche Gewebeverdrängung finden sich bei GUSTAFSSON (1940) sowie FREISLEBEN und LEIN (1943). KAPLAN (1951) bezeichnet den Konkurrenzkampf mutierter Zellkomplexe innerhalb des heranwachsenden Pflanzenindividuums als intraindividuelle und intrasomatische Selektion. GAUL (1959) kritisiert vorliegende Begriffe folgendermaßen:

“Der Begriff ‘intrasomatische Selektion’ erscheint deshalb nicht angebracht, weil der Terminus ‘Soma’ oft als Gegensatz zur Keimbahn gebraucht wird. In Mutationsexperimenten sind aber gerade die Selektionsvorgänge, welche die Keimbahn betreffen von Hauptinteresse. Der Terminus ‘intraindividuelle Selektion’ wurde bereits 1944 von Michaelis im Zusammenhang mit Plasmakombinationen benutzt.“

An gleicher Stelle verwendet GAUL den Begriff “Diplontische Selektion“ zur Charakterisierung der Gewebekonkurrenz während der vegetativen Wachstumsphase. Analog dazu bezeichnet er als “Haplontische Selektion“ den Verdrängungsprozeß zwischen den durch meiotische Reduktionsteilung entstandenen Zellen.

BALKEMA (1971) findet bei Untersuchungen an *Arabidopsis thaliana* L. einen starken Einfluß des äußeren Milieus (Wachstumsbedingungen) auf das Schicksal mutierter Zellen und die Dauer der chimärischen Phase überhaupt. Dieselbe Autorin schlägt für diese umweltbeeinflusste Erscheinung den Begriff "Diplontic Drift" (Diplontische Drift) vor. BALKEMA kommt zu dem Schluß, daß eine rein genetisch bedingte Verdrängung (Diplontische Selektion) weit weniger vorkommt als bisher angenommen. Vielmehr handelt es sich bei den meisten Verdrängungsprozessen um bereits vorbestimmte Effekte. Die zur apikalen Zone gehörenden teilungsaktiven Zellen müssen nicht untereinander gleichberechtigt sein. Wenn eine in benachteiligter Position sitzende Meristemzelle mutiert, kann der daraus hervorgehende Sektor relativ schnell verdrängt werden, ohne daß die Mutation zu einer Beeinträchtigung der Teilungsaktivität geführt hat.

2.3 Kritik

"Diplontische Selektion" steht für Verdrängungsprozesse in der vegetativen oder sporophytischen Wachstumsphase einer Pflanze. Diese Phase ist aber nicht notwendigerweise durch Diploidie charakterisiert, wie es die Verwendung des Wortes "Diplontisch" impliziert. Nach GOTTSCHALK (1984) weisen 70% aller zytologisch untersuchten Arten der höheren Pflanzen Polyploidie auf. HAGEMANN (1986) bestätigt, daß bis zu 50% aller Angiospermien polyploid sind, die Mehrheit davon allopolyploid.

Eine Lösung zu der dargestellten Unstimmigkeit ergibt sich bei einem Seitenblick in die anatomische Terminologie. Hier werden alle Körperzellen zum Sporophyten, alle aus meiotischer Reduktionsteilung hervorgegangenen Zellen zum Gametophyten zusammengefaßt. Überträgt man dieses Konzept auf den Bereich Gewebekonkurrenz, gelangt man zu den Begriffen "Sporophytische" und "Gametophytische Selektion" anstelle von "Diplontischer" und "Haplontischer Selektion".

Gleichermaßen erscheint "Sporophytische Drift" treffender für den von BALKEMA (1971) als "Diplontic Drift" benannten Prozeß der umwelt- oder positionsbeeinflussten Gewebeverdrängung.

Nicht immer muß Gewebek Konkurrenz zu einer vollständigen Ausgliederung des unterlegenen Gewebes führen. Bei stabilen Chimären (viele Periklinalchimären) ändert sich häufig nur das räumliche Verhältnis der beteiligten Gewebe. In diesem Fall ist der Terminus “Selektion“ unangebracht, da keiner der beteiligten Genotypen eliminiert wird. Die (räumliche) Gleichgewichtsänderung zwischen den idiotypisch verschiedenen Geweben ist bei Verwendung des Begriffes “Sporophytische Balancierung“ besser charakterisiert. Eine Übersicht über die Einteilung der Gewebek Konkurrenz im Sporophyten gibt Abbildung 2.1.

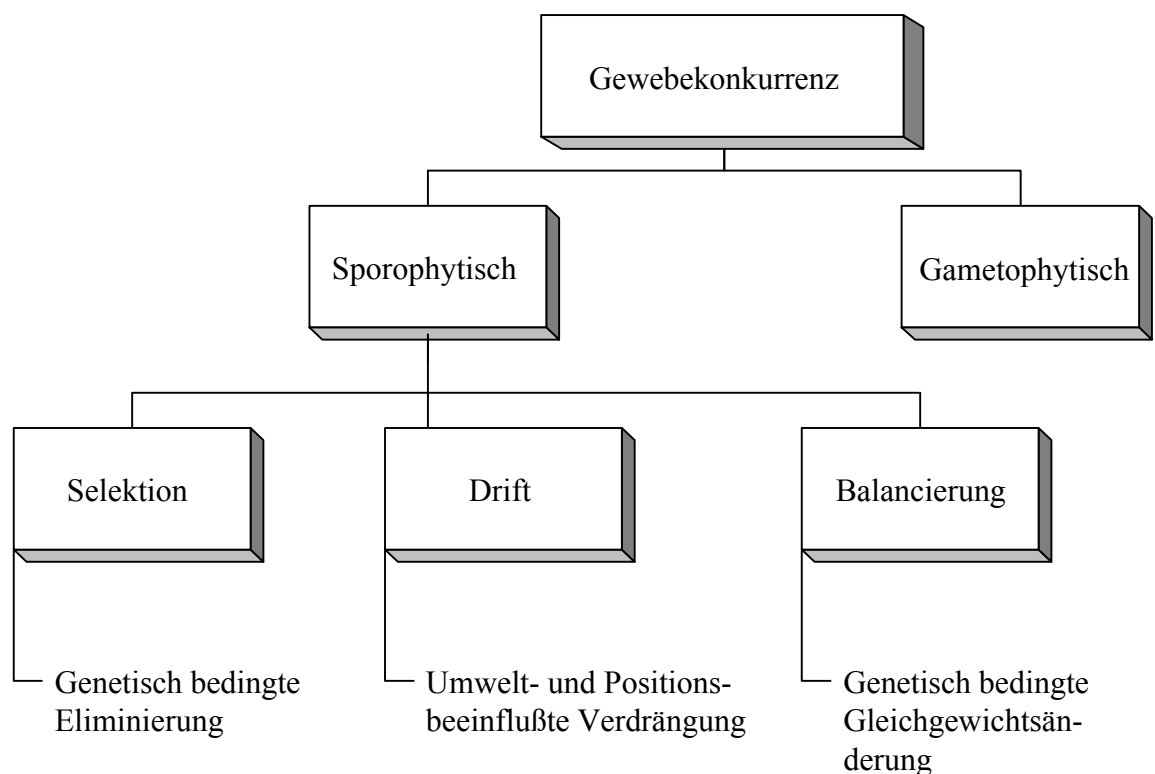


Abb. 2.1
Einteilung der Gewebek Konkurrenz

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 *Sansevieria* THUNB.

Sansevieria trifasciata PRAIN gehört zur Familie der *Agavaceae*. Ihre Heimat liegt im tropischen Westafrika. Sie gedeiht auf sonnigen Standorten mit gut durchlässigem Boden. Die charakteristische Blattmusterung, ihre Wuchsform, sowie die relative Anspruchslosigkeit begründen ihren Wert und ihre weite Verbreitung als Zierpflanze.

Sansevieria trifasciata besitzt 30-160 cm lange, 3-10 cm breite Blätter. Sie sind aufrechtstehend und linear lanzettlich geformt. Aus den ungefähr 3 cm dicken Rhizomen entstehen Triebe mit jeweils zwei bis sechs Blättern. Die Blätter weisen silberweiße, 1-2 cm breite Querbänder auf.

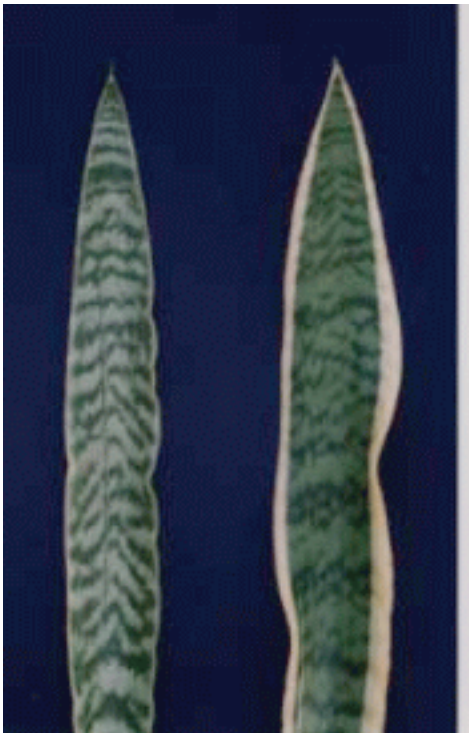


Abb. 3.1

Sansevieria trifasciata
links: 'WGG-Mutante'
rechts: 'Laurentii'

Für *Sansevieria* wurden drei unabhängige Sproßscheitelschichten nachgewiesen (THIELKE, 1949), die von außen nach innen als L1, L2 und L3 bezeichnet werden. Das untersuchte Material entstammt aus Versuchen von POHLHEIM (1976) in Potsdam. Weitere Untersuchungen erfolgten durch VOIGTSBERGER in den Jahren 1986-92.

3.1.1.1 *Sansevieria trifasciata* PRAIN 'Laurentii'

Die Sorte 'Laurentii' zeichnet sich durch breite gelblich-weiße Blattränder aus. VOIGTSBERGER (1988) erkannte den periklinalchimärischen Charakter von 'Laurentii' als Ursache für die Farbvariation. Die L1, der im Blattrandbereich neben der Epidermis auch Mesophyll entspringt, bildet aufgrund einer Defektmutation keine grünen Chloroplasten aus. Das den inneren apikalen Schichten (L2 und L3) entstammende Mesophyll besitzt dagegen keinen derartigen

Defekt. In Übereinstimmung mit der international üblichen Nomenklatur ist 'Laurentii' demnach eine WGG-Chimäre. "W" steht dabei für weißes oder gelbes und "G" für grünes Gewebe. Die Buchstabenfolge entspricht den Sproßscheitelschichten von außen nach innen (hier: L1=W, L2=G, L3=G).

3.1.1.2. *Sansevieria trifasciata* PRAIN 'WGG-Mutante'

Der Typ 'WGG-Mutante' ist ebenso wie 'Laurentii' eine periklinalchimärische Pflanze. Ihre genetische Konstitution hinsichtlich der Chlorophyllausbildung läßt sich mit WGG beschreiben (VOIGTSBERGER, 1988). Der gelblich-weiße L1-bürtige Randstreifen ist bei 'WGG-Mutante' deutlich schmaler als bei 'Laurentii' ausgebildet (Abb. 3.1).

3.1.2 *Peperomia obtusifolia* (L.) A. DIETER

Peperomia obtusifolia (L.) A. DIETER gehört zur Familie der *Piperaceae*. Heimat sind die subtropischen und tropischen Gebiete Asiens, Afrikas sowie Mittel- und Südamerikas. Die Pflanze besitzt dickfleischige Blätter von ledriger Konsistenz. *Peperomia obtusifolia* gedeiht in halbschattigen bis schattigen Lagen. Sie bevorzugt Standorte mit hoher Luftfeuchte und hohen Temperaturen. *Peperomia* eignet sich aufgrund ihrer relativen Anspruchslosigkeit gut als Topfpflanze. Die gärtnerische Vermehrung erfolgt häufig über Stecklinge, also auf vegetativen Wege. *Peperomia obtusifolia* ist ebenso wie *Sansevieria trifasciata* dreischichtig im Sproßscheitelaufbau.

3.1.2.1. *Peperomia obtusifolia* 'Golden Gate'

'Golden Gate' ist eine Chimäre vom Typ GWG. Im Gegensatz zu anderen GWG-Chimären von *Peperomia* besitzt 'Golden Gate' einen ausgesprochen breiten grünen Blattrand. Weiter nach innen gehend befindet sich eine Weißzone, die ein grünes Binnenfeld umschließt (Abb.3.2).

3.1.2.2 *Peperomia obtusifolia* ‘GWG-Mutante’

‘GWG-Mutante’ ist wie ‘Golden Gate’ eine GWG-Chimäre. Sie zeigt keinen durchgehenden grünen Blattrand. Nur sehr vereinzelt treten kleine grüne Ecken oder Kanten auf.



Abb. 3.2

Peperomia obtusifolia, links: ‘GWG-Mutante’, rechts: ‘Golden Gate’

3.1.3 *Pelargonium zonale* (L.) L’HERIT. ex AIT. ‘Rosa Liebling’

Pelargonium zonale (L.) L’Herit. ex AIT. ist ein Vertreter der Familie der *Geraniaceae*. Das Ursprungsgebiet liegt in Südafrika. Die Pflanzen bevorzugen gut wasserdurchlässigen Boden und neutrales bis etwas alkalisches Milieu. Für intensives Blühen ist 12 Stunden Tageslicht Voraussetzung.

‘Rosa Liebling’ ist eine schmalblättrige, dünnstämmige, buschige Sorte mit kleinen, sterilen, blaßrosafarbenen und weißgeränderten Blüten. Die Sterilität geht auf nichtfunktionsfähige weiblich-generative Organe und die Nichtausbildung männlicher Organe zurück. In der L1 von ‘Rosa Liebling’ liegt eine Anthozyandefektmutation vor. Über Partnerinduktion durch

nichtmutierte, L2-bürtige Mesophyllzellen werden angrenzende Epidermiszellen zur Anthozyanabildung (RÖSSEL, 1989) angeregt.

Von 'Rosa Liebling' existieren mehrere Formen mit verschiedenen Ploidiestufen sowie Cytochimären.

3.2 Methoden

Für quantitative Aussagen zur Gewebekonkurrenz sind zwei Dinge methodisch zu erfassen. Erstens muß nachgewiesen werden, daß tatsächlich genetisch verschiedenartiges Gewebe vorliegt. Zweitens müssen die Unterschiede in der Entwicklung und Ausprägung des genetisch abweichenden Gewebes im Vergleich zum "normalen" Gewebe gemessen werden. Nachfolgend werden alle verwendeten Methoden grundlegend beschrieben. Hinweise darauf, welche Methoden zu welcher Pflanzenart oder zu welchem Typ angewendet wurden, finden sich bei der Darstellung der Ergebnisse.

3.2.1 Nachweis genetischer Unterschiede

Die genetischen Unterschiede gehen auf induzierte oder spontane Mutationen zurück. Durch diese Mutationen wurden Merkmale wie Ploidiegrad, Chlorophyllausbildung und Anthozyanabildung variiert.

Farbmerkmale lassen sich visuell gut erfassen. Trotzdem müssen gelegentlich mikroskopische Nachweismethoden wie die

➔ ANALYSE DER SCHLIEßZELLEN

genutzt werden. Im Fall einer GWG-Chimäre werden die Schließzellen auf grüne Chloroplasten untersucht, um den genetischen Zustand der L1 bestätigen zu können. Epidermiszellen bilden in der Regel selbst bei genetischer Veranlagung keine Chloroplasten aus.

Für die Erfassung der Ploidiestufe gibt es eine Reihe Indikatormerkmale. Dazu zählen ganz allgemein Form und Größe von Zellen und Organen. Geeignet zur Bestimmung der L1-Ploidiestufe erweist sich die Messung der Größe von Schließzellen sowie die Zählung der Chloroplasten pro Schließzelle. Ein eindeutiger Nachweis ist allerdings nur über die

➔ ZÄHLUNG DER CHROMOSOMEN

möglich. Dazu muß das zu untersuchende Gewebe zunächst zur Bildung von Wurzelspitzen (enthalten aktive Teilungszone) angeregt werden. Bei gut regenerierenden Pflanzen wie *Sansevieria* und *Peperomia* wird einfach ein Gewebestück (z.B. ein Blattsektor) auf ein geeignetes Medium (im einfachsten Fall Gartenerde) aufgesetzt. Nach ungefähr zwei Wochen werden die neugebildeten Wurzelspitzen bei möglichst intensiven Sonnenschein mit einer Rasierklinge abgeschnitten. Eine Größe von 5 mm ist am günstigsten für die weitere Behandlung. Unmittelbar nach der Entnahme werden die Spitzen in einem Gemisch aus 96% igem Alkohol und Eisessig (Mischungsverhältnis 3:1) fixiert. Nach einem Tag erfolgt das Überführen in 70% igen Alkohol. In diesem Zustand lassen sich die Wurzelspitzen einige Zeit im Kühlschrank lagern. Zur Zählung der Chromosomen wird eine Wurzelspitze entnommen und in einen auf einem Objektträger befindlichen Tropfen Karminessigsäure gelegt. Im Tropfen wird die Spitze nun über einer offenen Flamme weichgekocht. Die Karminessigsäure wird je nach Bedarf mehrmals erneuert. Am Abschluß dieser etwa 5-7 minütigen Behandlung wird ein Deckglas aufgelegt und die Wurzelspitze mittels eines Holzstabes gefühlvoll gequetscht. Jetzt kann das Präparat auf geeignete Metaphasestadien untersucht werden. Bei Erfolg werden die Chromosomen gezählt, gezeichnet und fotografiert.

3.2.2 Quantitative Erfassung von Gewebemerkmalen

Um die Entwicklung der einzelnen Gewebeschichten (L1-Ln) zu verfolgen, bieten sich histologische Schnitte auf unterschiedlichen Differenzierungsebenen und in unterschiedlichen Schnittebenen an. An diesen Schnitten können Zellstrukturen, Zellkerne sowie Plastiden in Größe und Form studiert werden. Markierungen sind erforderlich, um Gewebekomplexe entsprechend ihrer Abstammung identifizieren zu können.

3.2.2.1 Gewebeschnitte

Verschiedene Präparierungen sind notwendig, um pflanzliche Gewebe einer mikroskopischen Analyse zugänglich zu machen. Gewebeschnitte können sowohl als Frischschnitte mit zeitlich begrenzter Analysemöglichkeit als auch als Dauerpräparate angefertigt werden.

➔ FRISCHSCHNITTE

lassen sich relativ einfach anfertigen, indem man die zu schneidenden Gewebebereiche in trockenes Holundermark, Gurke, Kartoffel oder andere geeignete Materialien einspannt und

mit einer Rasierklinge dieses Gewebe von Hand schneidet. Bei besonders dickfleischigen Pflanzenteilen lässt sich der Schnitt auch ohne Hilfsmittel anfertigen. Letztere Methode wurde bei *Sansevieria* erfolgreich angewendet. Nach dem Schneiden werden die Gewebestücke in ein mit Wasser gefülltes Glasröhrchen gegeben und an einer Vakuumpumpe entlüftet. Anschließend gibt man die Schnitte auf einen mit Wasser befeuchteten Objektträger und arretiert die Schnitte mit einem Deckglas. Die Objektträger können nun unter dem Durchlichtmikroskop gut analysiert und bei Bedarf fotografiert werden. Frischschnitte eignen sich nur für ältere Gewebebereiche, da die Zellen dort relativ groß sind und eine stabile Struktur besitzen.

Extrem kleine Pflanzenbereiche, wie der des Sproßscheitels, können nicht von Hand geschnitten werden. Einerseits würden die empfindlichen Meristemzellen schon bei kurzer Verweildauer an der Luft oder auf dem Objektträger extremen Veränderungen unterliegen, andererseits lassen sich ausreichend dünne und gleichmäßige Schnitte in diesem Bereich praktisch nicht anfertigen. Bei mehr als 15 µm dicken Schnitten lassen sich Zellstrukturen im Sproßscheitel nicht mehr erkennen.

➔ MIKROTOMSCHNITTE

in Verbindung mit konservierenden Einbettungsverfahren sind für Schnitte bis zu 20 µm Dicke geeignet. Zur besseren Übersicht sind die verwendeten Präparierungsmethoden nachfolgend in Tabellenform vergleichend dargestellt.

Tabelle 3.1 Einbettungsverfahren zur Herstellung von Gewebeschnitten als Dauerpräparat

Arbeitsschritt	Einbettungsverfahren (Fixierlösung / Einbettungsmittel)		
	Carnoy / Paraffin	Juel / Paraffin	Carnoy / Kunststoff
Objektentnahme	vorsichtiges Herauspräparieren des Sproßscheitels (5 mm) mit Skalpell unter dem Cytoplasten		
Vorbehandlung	keine	Glycerol/Ethanol 1:1 (15 - 120 min)	keine
Entlüften	Aqua destillata	Juel	Aqua destillata
Fixierung	Carnoy (2 Tage)	Juel	Carnoy (24 - 48 h)
Entwässern	70% Alkohol (2 Tage)	Propanol 3x	Ethylenglycolmonoethylether 2x
	96% Alkohol (2 Tage)	(1 Tag / 1 Tag / 1 Tag)	(4h / 20 h)
	Propanol (2 Tage)	Propanol/Eosin (1 Tag)	Ethanol 2x (4 h / 20 h)
	Propanol/Eosin (2 Tage)	Rotihistol (1 Tag)	Propanol 2x (4 h / 20 h)
	Rotihistol (2 Tage)	neues Rotihistol (1 Tag)	n-Butanol 2x (4 h / 20 h)
Einbetten	Rotihistol/Paraffin 1:1 (60°C, 2 Tage)	Rotihistol/Rotiplast 1:1 (60°C, 2 Tage)	100ml Technovit 7100 + Härter I 1g (=VL) 2x (48 h / 48 h)
	Rotihistol verdunsten lassen (60°C, 3 Tage)	Rotiplast (60°C, 2 Tage)	20 ml VL + 2 ml Härter II bei Raumtemperatur
	neues Paraffin in Formen eingießen Präparate einbetten und ausrichten		Polymerisation (24 h)
Einblocken			Lösung 3040/Pulver 3040 1:2 Trägerblöcke befestigen 1 h Polymerisation
Schneiden	Mikrotom		
Färben	Rotihistol (10 Min.)		
	Propanol		
	96% Alkohol 2x		
	70% Alkohol		
	H ₂ O		
	Hämalaun nach Mayer (1-2 min)		
	bläuen unter fließendem Wasser (10 min)		
	Eosin 1%-ig wässrig (20 min)		
	H ₂ O		
	70% Alkohol		
	96% Alkohol 2x		
	Propanol 2x		
	Rotihistol		
Eindeckeln	Kanadabalsam		DPX

3.2.2.2. Meßmethoden

Um die Zellgröße zu bestimmen, können mehrere Meßmöglichkeiten genutzt werden. Da die Zelle ein räumliches Gebilde ist, wird ihre Größe durch das Volumen exakt charakterisiert. Das Volumen läßt sich aufgrund der unregelmäßigen geometrischen Form allerdings nur mit großem Aufwand bestimmen. Für die vorliegende Arbeit boten die

➔ MESSUNGEN DER AUSDEHNUNG(EN) VON ZELLEN

in verschiedenen Betrachtungsebenen eine geeignete Alternative. Die Zellen werden dabei auf die zweidimensionale Ebene projiziert. Bei vergleichenden Untersuchungen ist die Gleichheit der Betrachtungsebene besonders wichtig. In der vorliegenden Arbeit sind durch Längs- und Querschnitte, Epidermisabzüge sowie durch mikroskopisches Durchleuchten von dünnen Blütenblättern unterschiedliche Betrachtungsebenen erzielt worden. Nachstehendes Schema verdeutlicht am Beispiel einer Epidermiszelle von *Sansevieria trifasciata*, daß die Wahl der Betrachtungsebene die scheinbare Zellgröße stark beeinflussen kann.

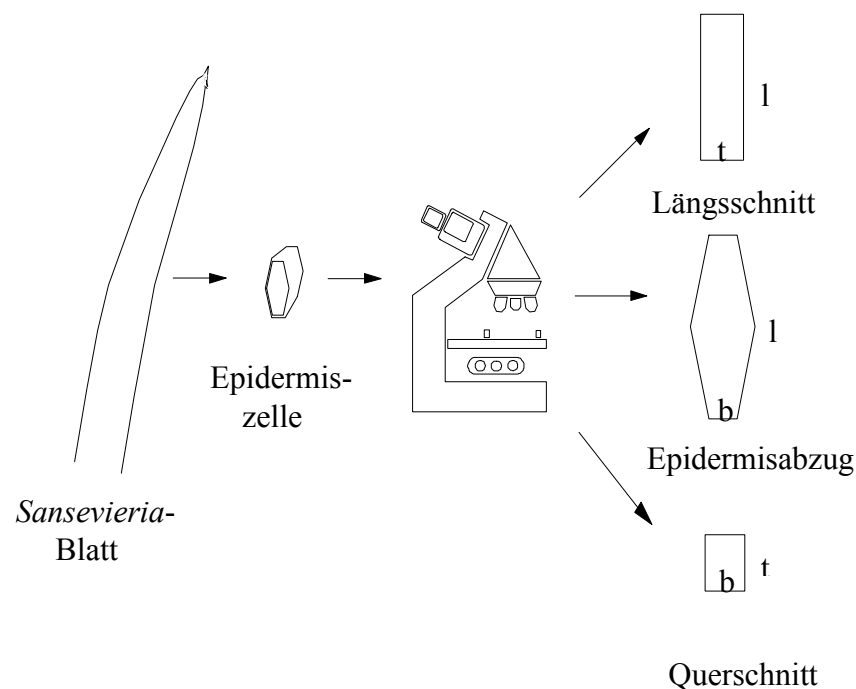
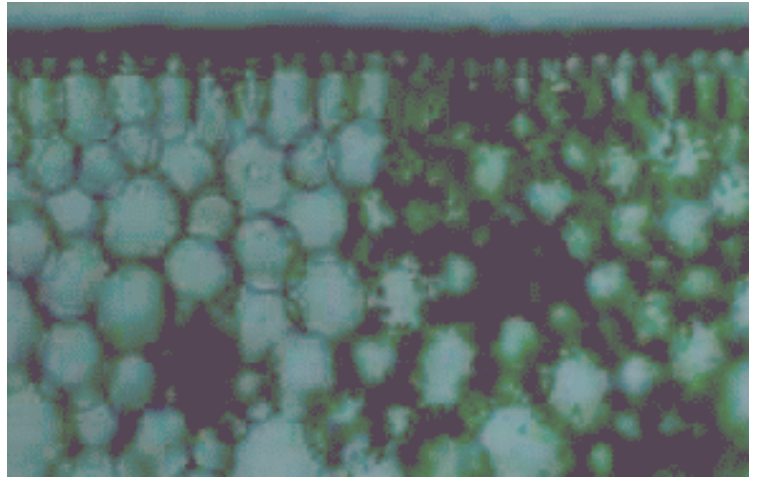


Abb. 3.3

Größe und Form der Epidermiszellen von *Sansevieria trifasciata* in Abhängigkeit von der gewählten Betrachtungsebene (l =Länge, b =Breite, t =Tiefe)

Die Epidermiszellen von *Sansevieria* haben eine wabenförmige Gestalt. Sie erscheinen in der Aufsicht sechs- teilweise achteckig, im Längs- und Querschnitt dagegen eher rechteckig.

In der Aufsicht lassen sich Epidermiszellen und ein bis zwei darunterliegende Mesophyllschichten gut analysieren (Abb. 3.4, links). Bei dünnen Blütenblättern können alle Schichten der gesamten Petale erfaßt werden.



Im Quer- und Längsschnitt lassen sich die Zellen der verschiedenen Gewebe bzw. Abstammungen direkt vergleichen, wobei auch hier die Reduktion der dreidimensionalen Zelle in eine zweidimensionale Betrachtung zu beachten ist. Querschnitte eignen sich besonders für Zellmessungen im Rand- und Übergangsbereich von Blättern und Blütenblättern (Abb. 3.4). Im Längsschnitt ist nur der Sproßscheitel untersucht worden.



Messungen an Zellen erfolgten mit einem Meßokular. Die Anzahl der Skalenteile multipliziert mit der gewählten Vergrößerung ergibt dabei das entsprechende metrische Maß. Mittels eines geeichten Objektmikrometers läßt sich die Vergrößerung am besten bestimmen.

Bei Erfassungen der Zellzahl pro Fläche werden die vollständig eingeschlossenen Zellen pro Fläche gezählt. Als Begrenzung dient das Fotofenster im Forschungsmikroskop Jenaval. Die Zellen sind dabei so orientiert worden, daß sie sich auf einer Seite möglichst optimal an den Rand des Fotofensters anpassen.

Abb. 3.4

oben: Querschnitt aus Blatt-Übergangsbereich von *Sansevieria*
 unten: Simultane Größenmessungen von Epidermis- und Mesophyllzellen an Epidermisabschnitten bei *Sansevieria* (im Querschnitt können Tiefe und Breite, in der Aufsicht Länge und Breite gemessen werden)

Neben mikroskopischen Zellmessungen erfolgten außerdem

➔ MESSUNGEN AN GEWEBEN UND ORGANEN

Bei *Sansevieria* wurden an ausgewachsenen Blättern Messungen zur Ausbildung des chlorophyllfreien Randstreifens durchgeführt. An den untersuchten Pflanzen wird jeweils Länge des Blattes, maximale Breite des Blattes sowie Breite des weiß-gelben Randstreifens gemessen. Länge und Breite werden mittels eines biegsamen Metallmaßbandes bestimmt. Der Randstreifen wird rechts und links sowohl an Vor- und Rückseite des Blattes gemessen. Die Dicke des Blattes kann unter dem Mikroskop mit Hilfe eines Meßokulares bestimmt werden. Bei *Pelargonium* sind die Blütenblätter erfaßt worden. *Pelargonium* 'Rosa Liebling' besitzt einen weißen Rand und ein rotes Binnenfeld. Mit einem Lineal wurden Länge und Breite der Blütenblätter und die Breite des weißen Randes im Zentralbereich bestimmt.

3.2.3 Histogenetische Markierung

Zur Erforschung der Gewebekonkurrenz braucht man genetisch markierte (chimärische) Pflanzen. Die chimärischen Merkmale dieser Pflanzen müssen erfaßbar sein. Besonders geeignet sind Farbmerkmale. So lassen sich chlorophylldefekte Bereiche an Laubblättern sehr gut erkennen. Bei Blütenblättern werden ähnliche Effekte durch die Nichtausprägung von dort vorhandenen Farbstoffen (Anthozyane, Karotine, o.a.) erzielt. Nachteilig an Farbmarkierungen ist die auf bestimmte Organe und damit auch Entwicklungsabschnitte begrenzte Ausprägung. Zum Beispiel lassen sich chlorophylldefekte Zellen im Sproßscheitel kaum von genetisch grünen Zellen unterscheiden. Andere Merkmale wie Ploidiegrad wirken während der gesamten Lebenszeit auf die Zelle ein. Höherploide Zellen und Zellkerne sind in der Regel größer.

Zur quantitativen Erfassung der Gewebekonkurrenz ist die Methode der doppelten Markierung genutzt worden (POHLHEIM u. RÖSSEL, 1989). Der entscheidende Vorteil dieser Methode ist, daß man anhand einer Markierung die Wirkung einer anderen erfassen kann. Dies soll am Beispiel von *Sansevieria trifasciata* erläutert werden. Hier existiert mit 'Laurentii' ein WGG/TDD-Typ und mit 'WGG-Mutante' ein WGG/DDD-Typ. An beiden Typen hebt sich die L1-Komponente farbig ab.

Bei 'Laurentii' ist die L1 zusätzlich durch Tetraploidie markiert. Beim Vergleich des TDD-Typs mit dem DDD-Typ kann der Einfluß der tetraploiden L1 gut bestimmt werden. Aber auch innerhalb von 'Laurentii' lassen sich L1-bürtige Zellen mit gleichartigen L2-bürtigen Zellen vergleichen. Nachteilig an der Farbmarkierung ist, daß die Ergrünung der Chloroplasten erst in fortgeschrittenen Blattstadien nach der Differenzierung erfolgt. An sehr jungen Pflanzenteilen wie dem Sproßscheitel ist die Farbmarkierung nicht sichtbar. Hinzu kommt, daß beim chemischen Aufbereiten der Schnittpräparate das Chlorophyll verlorengelht.

4 ERGEBNISSE

4.1 *Sansevieria trifasciata*

4.1.1 Untersuchungen im Bereich der Sproßspitze

4.1.1.1 Qualität der Paraffin- und Kunststoffeinfbettung

Bei *Sansevieria* wurden Sproßscheitel im Längs- und Querschnitt analysiert. Dazu erfolgten sowohl Kunststoff- als auch Paraffineinfbettungen. In beiden Fällen erwies es sich als schwierig, gute Ergebnisse zu erzielen. Die Kunststoffmethode führte zu einer relativ guten Einfbettung, aber die Zellen, insbesondere im Bereich des Sproßscheitels, erschienen bei mikroskopischer Betrachtung stark geschrumpft und verzerrt. Mögliche Ursache dieser Erscheinung ist die weiche Struktur des Scheitels im Gegensatz zur hohen Festigkeit der Blätter. Letztere entsteht vor allem durch längsgerichtete Sklerenchymfasern. Um die Schrumpfung zu vermeiden, sollte nach dem Herauspräparieren so schnell wie möglich fixiert werden. Die Entlüftung wird besser in der Fixierlösung als in destilliertem Wasser vorgenommen. Wichtig ist die anschließende Erneuerung des Fixiergemisches, da durch die Entlüftung die chemische Zusammensetzung verändert wird.

Bei Paraffineinfbettung wurde die Fixierung nach Carnoy oder Juel durchgeführt. Dabei auftretende Probleme waren eine schlechte Einfbettung der Präparate in das Paraffin mit anschließendem Herausbrechen beim Schneiden. Eine mangelhafte Einfbettung läßt sich

zurückführen auf ungenügende Entlüftung und/oder einen unvollständigen chemischen Austauschprozeß während der Entwässerung. Besonders negativ wirkte sich das Auftreten einer schlierigen Substanz nach dem Wechsel von Rotihistol zu Rotihistol/Paraffin auf. Diese gelbliche und sehr klebrige Substanz umschließt die Explantate und verhindert eine ordentliche Einbettung. Durch mehrmaliges Erneuern des Rotihistols vor der Paraffinzugabe läßt sich die Gefahr eindämmen. Günstig wirkt sich auch das mehrmalige Erneuern des Paraffins nach dem zweitägigen Verdunsten des Rotihistols aus.

Bei der Fixierung nach Carnoy wurden keine klaren Schnittbilder erzielt. Wahrscheinlich ist die Eignung von Carnoy'schem Gemisch, als einem härtenden Fixiermittel für die schon relativ harten Blätter und das relativ weiche Paraffin ungenügend. Bessere Ergebnisse wurden mittels Juel'schem Gemisch erreicht. Hier wird das Präparat weicher fixiert. Das Vorweichen mit Glycerol/Propanol verbessert die Einbettung, erhöht aber das Risiko der Veränderung der Zellstrukturen.

4.1.1.2 Mikroskopische Analyse der Präparate

Es wurden bei *Sansevieria* Sproßspitze im Längs- und Querschnitt analysiert. Ziel war dabei, anhand der Ploidiemarkierungen Aussagen über die unterschiedliche Entwicklung von 'Laurentii' und 'WGG-Mutante' in diesem frühen Entwicklungsstadium zu treffen.

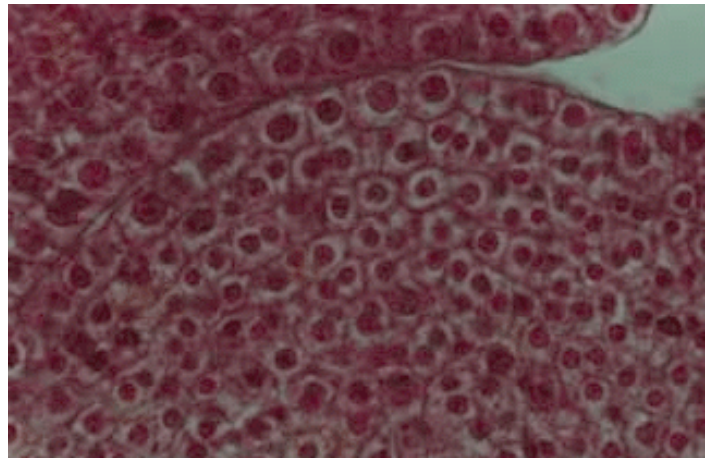


Abb. 4.1 (oben)

Längsschnitt durch die Scheitelregion von 'Laurentii'

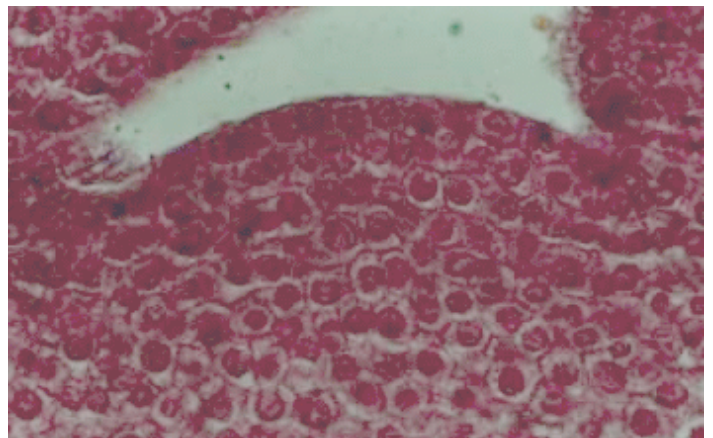


Abb. 4.2 (unten)

Längsschnitt durch die Scheitelregion von 'WGG-Mutante'

Bei ‘Laurentii’ ist eine Abgrenzung der L1 und ihrer Derivate verhältnismäßig einfach möglich, da hier die Zellkerne deutlich größer sind. Tabelle 4.1 zeigt einen Vergleich der Kerngrößen an 14 Querschnittspräparaten. Gemessen wurden je Präparat zehn aufeinanderfolgende Kerne. Leider liegen die Kerngrößen selbst bei maximaler Vergrößerung nur im Bereich von 4-7 Skalenteilen.

Tabelle 4.1 Vergleich der Kerngrößen in Sproßscheitelquerschnitten von ‘Laurentii’

Präparat	Kerngrößen (Skalenteile ¹)		Bemerkungen
	L1	L2/L3	
Q 1	5-6	3-4	
Q 3	5-6	4	
Q 4	5-6	4	
Q 5	6	4	
Q 6	5-7	4	
Q 7	5-7	3-5	
Q 8	5-6	4-5	
Q 9	5-6	4-5	Unterschiede schwer feststellbar keine Unterschiede erkennbar
Q 10	4-5	4-5	
Q 11	5-6	4-5	
Q 12	5	5	
Q 14	5-6	4-5	
Q 15	5-6	4-5	
Q 16	5-6	4-5	
Durchschnitt	5,5	4,3	
(%)	(128%)	(100%)	

¹ 1 Skalenteil = 1,56 µm

Alle gemessenen Kerne wurden zur Messung in die Ebene mit maximaler Ausdehnung gebracht (Drehen am Feintrieb). Im Durchschnitt sind die ‘L1-Kerne’ um das 1,3 fache größer als die Kerne der innenliegenden Schichten. Obwohl der t-Test eindeutig einen Unterschied ergibt (t-Wert: 7,42), muß das Ergebnis aufgrund der möglichen Meßfehler vorsichtig betrachtet werden. Meßungenauigkeiten entstehen insbesondere durch die ungenügende Vergrößerung und durch möglicherweise nur seitlich angeschnittene Kerne.

Zur Beurteilung der Blattrandbildung wurden zunächst die Scheitelquerschnitte studiert. Bei 'Laurentii' kann das L1-bürtige Mesophyll direkt anhand der größeren Zellkerne zugeordnet werden. Schwierigkeiten eröffneten sich dagegen bei 'WGG-Mutante'. Hier war nur auf gut sichtbare Zellwandstrukturen zu vertrauen. Abbildung 4.4 zeigt Messungen an Blattanlagen. Diese konzentrierten sich ausnahmslos auf die jüngste und zweitjüngste Blattanlage. In älteren Bereichen ließ sich keine Schichtenidentifizierung vornehmen. Hauptgrund war die abnehmende Qualität der Zell- und Zellkernstrukturen.

Um Vergleiche mit ausdifferenzierten Blättern zu ziehen, wurde die prozentuale Breite

des Randes in den jungen Blättern kalkuliert. Wegen der starken Krümmung der Blätter wurde das mittlere Bogenmaß \bar{b} als Maß für die Blattbreite berechnet. Folgende Formeln wurden verwendet:

$$(1) \quad \bar{b} = \frac{8\bar{h}^2 \times s}{3s^2 + 12\bar{h}^2} + s$$

$$(2) \quad \bar{h} = (h_1 + h_2) / 2$$

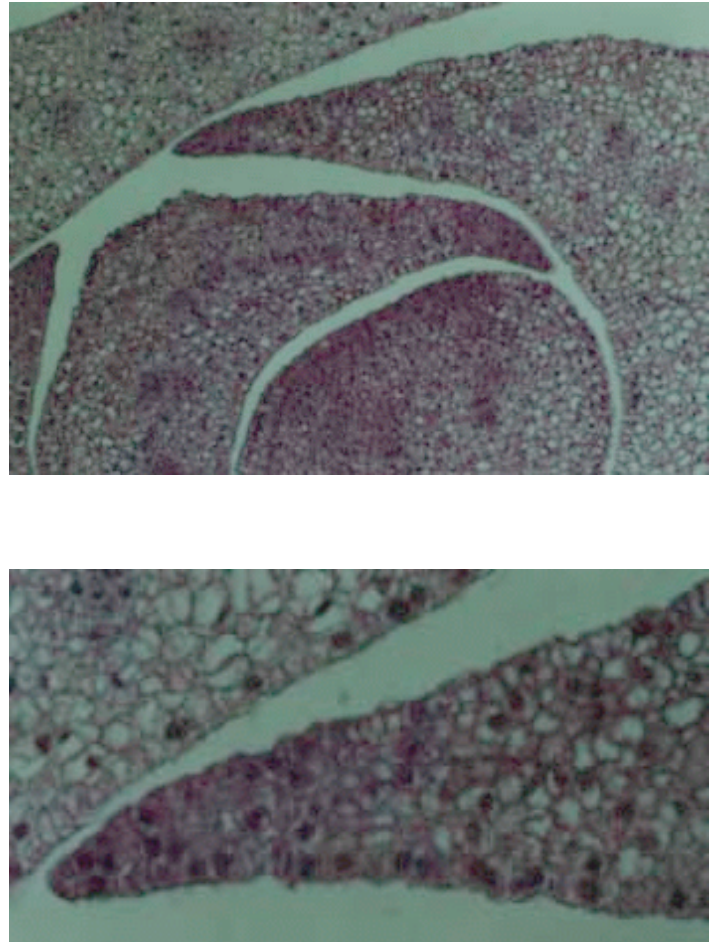


Abb. 4.3

Ausschnitt aus Querschnittspräparat Q7/4 von 'Laurentii', oben: Übersicht, unten: Randbereich der zweiten Blattanlage mit eingezeichneter Trennlinie zwischen L1- und L2-bürtigem Gewebe

Tabelle 4.2 Bestimmung des L1-Randanteiles an Querschnitten von jungen Blättern

Präparat-nummer	Blatt	Randbreite a / a' (μm)	Bogenmaß \bar{b} (μm)	L1-bürtiger Rand (%)
Q7/4	1	115	943	12,2
	2	147	1768	10,8
		191		8,3
Q3/4	1	32	300	10,6
Q6/3	1	179	1620	11,0
		160		9,9
	2	306	3101	9,9
		140		4,5
Q5/2	1	338	2845	11,9

In Gleichung (1) ist die vereinfachende Annäherung $A \approx \frac{2}{3}hs$ zur Berechnung von Kreissegmenten genutzt worden (BARTSCH, 1991). Die Ermittlung des prozentualen Randes erfolgte nun über das Verhältnis von gemessenem L1-bürtigen Rand (a bzw. a') zu mittlerem Bogenmaß \bar{b} . Bei Präparaten, wo die Form der Blattanlage stark von der in Abbildung 4.4 gezeigten Kreissegmentform abwich, wurde die Blattbreite auf andere Weise gemessen. Dem bogenförmigen Verlauf wurde sich dort über mehrere, aneinandergereihte, lineare Abschnitte angenähert. Dabei erwiesen sich die entstehenden Leitbündel als günstige Anhaltspunkte.

Tabelle 4.2 zeigt die Ergebnisse der beschriebenen Kalkulation. Für eine Analyse waren leider nur wenige Querschnittspräparate geeignet.

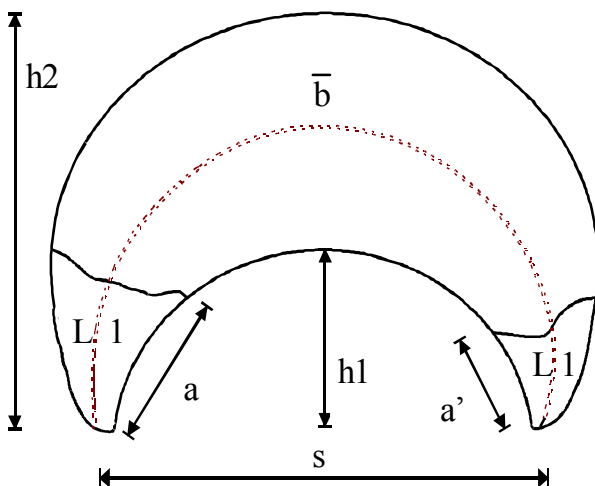
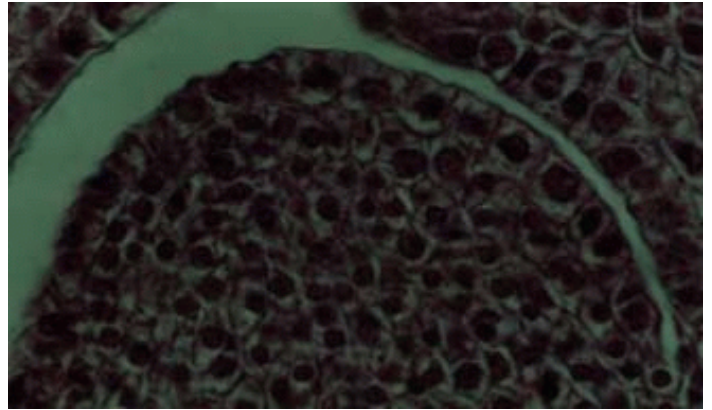


Abb. 4.4
Messungen an Blattanlagen in Sproßscheitelquerschnitten von 'Laurentii' zur prozentualen Bestimmung der L1-Komponente

Der prozentuale Anteil des L1-bürtigen Mesophylls ist in den frühen Differenzierungsstadien schon relativ hoch. Die Gültigkeit der gefundenen Werte ($\emptyset=9,9\%$) hängt aber -wie bereits angedeutet- in erster Linie davon ab, ob die Trennlinie zwischen L1- und L2-bürtigem Gewebe richtig erfaßt wurde.

‘Laurentii’ weist häufig perikline Teilungen in der Phase der ersten Blattbildung auf. In 20 ausgewerteten Querschnitten wurden 67 verschiedene perikline Teilungen in den Blattspitzen der ersten bis



sechsten Blattanlage gefunden.

Nur in einem Präparat von 20 Längsschnitten wurden perikline Teilungen schon im Stadium des Sproßscheitel gefunden

Abb. 4.5

Sproßscheitel von ‘Laurentii’ (Längsschnitt) mit teilweisem Durchbruch der L1 in die zweite Schicht

(Abb. 4.5). Damit begründet sich die relative Stabilität von ‘Laurentii’. Bei ‘WGG-Mutante’ fanden sich weitaus seltener perikline Teilungen. Von zehn Querschnittspräparaten wurden nur vier perikline Teilungen in den Blattanlagen identifiziert.

4.1.2 Untersuchungen im Bereich des ausdifferenzierten Blattes

Im ausdifferenzierten Blattstadium zeigt ‘Laurentii’ die bereits beschriebenen, breiten, weißgelben Randstreifen. Als Ursache der größeren Breite wurde der tetraploide Status der L1 gefunden (VOIGSTBERGER, 1988). Es ergab sich nun die Fragestellung, ob dieser breite Rand durch vergrößerte Zellen, durch eine höhere Anzahl von Zellen (mehr L1-bürtige Mesophyllzellen) oder durch eine Kombination beider Effekte hervorgerufen wird.

4.1.2.1 Blattmessungen

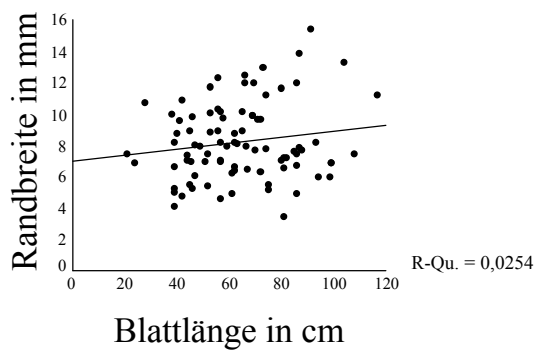


Abb. 4.6
'Laurentii' im Köpenicker
Bestand

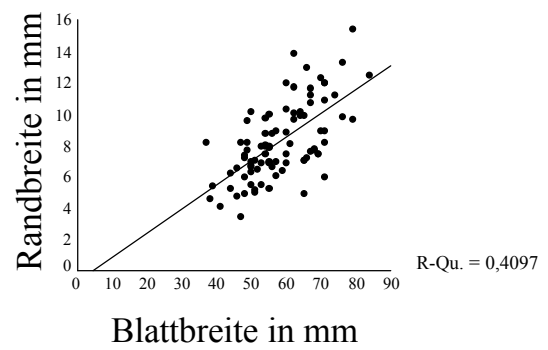
Zunächst wurden am vorhandenen Bestand Blattmessungen durchgeführt, bei denen Blattlänge, Blattbreite und die Breite des weißen Randes erfaßt wurden. Die Breite des weißgelben Randes bei WGG-Formen von *Sansevieria* wird von mehreren Faktoren bestimmt. Der entscheidende Faktor ist die Ploidiestufe der L1. Weitere Faktoren sind Länge und Breite des Blattes. Das Ziel der Untersuchungen war, nur den Einfluß der L1-Ploidiestufe auf die Randbreite zu ermitteln, den Einfluß der anderen Faktoren aber möglichst zu unterdrücken. Eine Ausschaltung dieser Störgrößen ist wichtig, da nur eine begrenzte Anzahl von Versuchspflanzen zur Verfügung stand. Es mußten Pflanzen von 'Laurentii' und der diploiden WGG-Form verglichen werden,

deren Blätter nicht unbedingt die gleichen Längen- und Breitenmaße aufwiesen.

An 100 *Sansevieria*-Blättern beider Ploidietypen wurden Länge, Breite sowie Breite des L1-bürtigen Randes gemessen. Zur Bestimmung des Einflusses von Blattbreite und Blattlänge auf die Ausbreitung des L1-bürtigen Gewebes wurden lineare Regressionen durchgeführt. Obwohl Wachstumskurven im allgemeinen einem sigmoiden Verlauf folgen (STRÄßBURGER *et al.*, 1991), können hier lineare Funktionen genutzt werden. Die Länge der untersuchten Blätter variierte im Bereich 40-90 cm. Die an diesen Blättern untersuchten (ausdifferenzierten) Zellen entwickeln sich nur noch über Plasma- und Streckungswachstum. Selbst wenn das Streckungswachstum nicht linear verläuft, besteht kein Grund anzunehmen, daß die Wachstumsunterschiede zwischen L1- und L2-bürtigem Mesophyll exponentieller Natur sind.



①



②

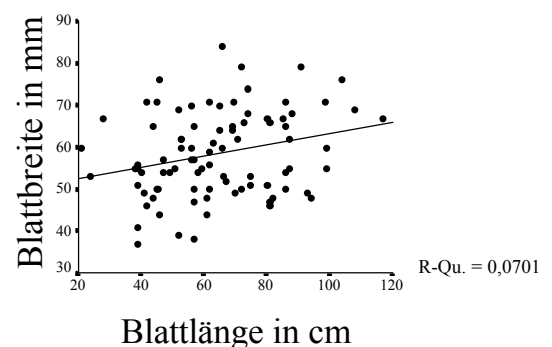
Abb. 4.7

Regressionsanalysen zu 'Laurentii'

① L1-bürtiger Rand - Blattlänge

② L1-bürtiger Rand - Blattbreite

③ Blattbreite - Blattlänge



③

In Diagramm ① von Abbildung 4.7 ist die Breite des weiß-gelben Randes bei 'Laurentii' in Abhängigkeit von der Blattlänge dargestellt. Die eingezeichnete lineare Regressionsgerade zeigt nur eine schwache positive Steigung. Abweichungen der einzelnen Wertepunkte von den geschätzten Werten sind relativ groß. R^2 liegt mit 2,5% sehr niedrig. Der t-Test führt zu keiner Ablehnung der Nullhypothese (H_0 : Breite des L1-bürtigen Blattrandes ist nicht von der Blattlänge abhängig). Damit ist der Einfluß des Merkmales Blattlänge auf die Randbreite statistisch nicht abgesichert. Von den Regressionen abgeleitete Schlußfolgerungen haben nur für Blätter zwischen 40 bis 90 cm Länge Gültigkeit.

Der geringe Einfluß der Blattlänge auf die Breite des L1-bürtigen Randes findet im äußeren Erscheinungsbild von *Sansevieria* Bestätigung (vgl. Abb. 4.). Die Blätter weisen über die gesamte Blattlänge eine relativ konstante Breite auf. Ebenso verläuft der weiß-gelbe Randstreifen parallel zum absoluten Blattrand. Wie bei einkeimblättrigen Pflanzen generell üblich, spielt das Breitenwachstum also in fortgeschrittenen Entwicklungsstadien eine untergeordnete Rolle (vgl. auch Abb. 4.3 Diagramm ③).

Diagramm ② der Abbildung 4.7 zeigt die Regression von Breite des L1-bürtigen Randes zur absoluten Blattbreite. Erwartungsgemäß ist die Abhängigkeit der L1-Komponente zum Regressor größer als die zur Blattlänge. Auffällig ist aber auch die bessere Anpassung der Regressionsgeraden an die Wertepunkte. Die Breite eines *Sansevieria*-Blattes ist zur Erklärung der Streuung im Merkmal “Breite des L1-bürtigen Randes“ offenbar besser geeignet als seine Länge. Der t-Test bestätigt den Zusammenhang zwischen Blattbreite und L1-bürtigem Rand. Als statistische Schlußfolgerung ergibt sich, daß im Bereich 4-9 cm Blattbreite jeder Zentimeter Breitenzuwachs zu einer Zunahme des weiß-gelben Randes von 1,5 mm führt.

Tabelle 4.3 Vergleich der Regressionen (Laurentii)

Regression	Koeffizient	SD _{Koeffizient} *	R-Quadrat (%)	p-Wert (t-Test)
L1 - Länge	0,02	0,01	2,54	0,14
L1 - Breite	0,15	0,02	40,97	0,00
Breite - Länge	0,13	0,05	7,01	0,01

* SD_{Koeffizient} = Standardabweichung des Regressionskoeffizienten

Die gewonnen Erkenntnisse können nun genutzt werden, um den Unterschied in der Streifenbreite zwischen ‘Laurentii’ und der diploiden Variante quantitativ zu erfassen. Abbildung 4.8 zeigt im Vergleich beider *Sansevieria*-Typen die Abhängigkeit des L1-bürtigen Randes von der Blattbreite. An den eingezeichneten linearen Regressionsgeraden wird ersichtlich, daß die Breite des weißen Randes bei der ‘WGG-Mutante’ im Gegensatz zu ‘Laurentii’ nur gering mit der absoluten Blattbreite korreliert ist. Der Einfluß der Ploidiestufe der L1 auf die Breite des weißen Randes läßt sich deshalb nicht unabhängig von der Blattbreite bestimmen.

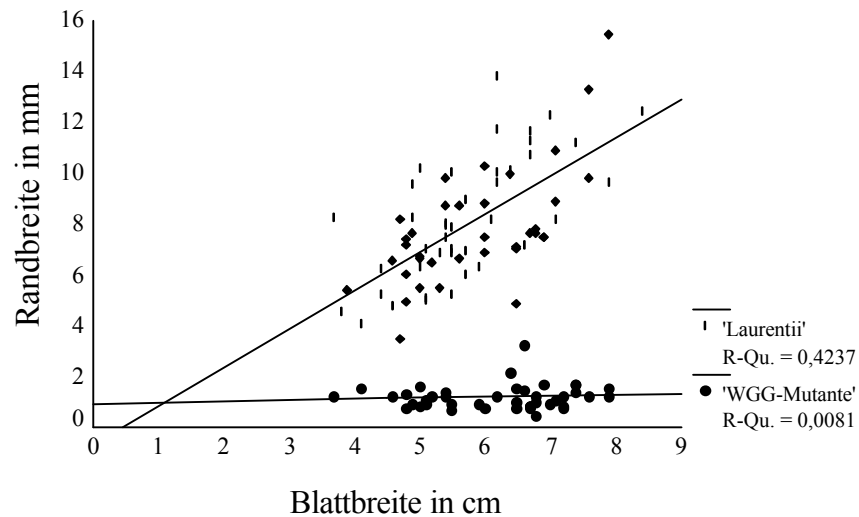


Abb. 4.8

Abhängigkeit der Breite des L1-bürtigen Randes von der Blattbreite

Je breiter die Blätter sind, um so größer ist wird das Verhältnis von tetraploidem Rand zu diploidem Rand. Folgendes statistisches Modell kann genutzt werden, um diese Besonderheit zu berücksichtigen:

$$(1) \quad L1 = \alpha_0 + \alpha_1 \times \text{Tetraploidie} + \alpha_2 \times \text{Breite} + \alpha_3 \times \text{Tetraploidie} \times \text{Breite}$$

L1 steht für Breite des weißen, L1-bürtigen Randes, Tetraploidie für eine 0/1 Variable (0=DDD, 1=TDD) und Breite für die Breite des *Sansevieria*-Blattes, gemessen an der breitesten Stelle. Alpha 1 mißt den konstanten Effekt und Alpha 3 den breitenabhängigen Effekt der tetraploiden L1. Die von Breite und L1-Ploidiestufe unabhängige L1-bürtige Randbildung wird über Alpha 0 erfaßt. Alpha 2 widerspiegelt den partiellen Einfluß der Blattbreite auf die Breite des L1-bürtigen Randstreifens. Tabelle 4.4 zeigt die Ergebnisse der Regression.

Tabelle 4.4 Regressionsergebnisse für Modell (1)

Regressor	α	SE α	T	Sig T
Konstante	1,00	1,37	,73	,466
Tetraploidie	-1,66	1,68	-,99	,326
Breite	,04	,22	,18	,855
Tetraploidie \times Breite	1,47	,27	5,38	,000

Die Daten in Tabelle 4.4 belegen nur für die Variable ‘Tetraploidie \times Breite’ einen signifikanten Einfluß auf die Ausprägung des weißen L1-bürtigen Randes. Modell (1) kann dementsprechend stufenweise reduziert werden. Die unsignifikanteste Variable wird dabei zuerst ausgeschlossen. Nach jeder Reduktion wird die Regression neu ausgeführt und die Koeffizienten auf Signifikanz überprüft. Diese Prozedur erreicht ihren Abschluß, wenn alle Koeffizienten einen statistisch gesicherten Einfluß haben (Sig T < ,05). Im vorliegenden Fall ließ sich Modell (1) bis zu folgender Struktur reduzieren:

$$(2) \quad L1 = \alpha_0 + \alpha_3 \times \text{Tetraploidie} \times \text{Breite}$$

Tabelle 4.5 Regressionsergebnisse für Modell (2)

Regressor	α	SE α	T	Sig T
Konstante	1,14	,22	5,15	,000
Tetraploidie \times Breite	1,21	,05	25,48	,000

In Tabelle 4.5 sind die Ergebnisse der Regression unter Modell (2) dargestellt. Die Regressionskoeffizienten lassen sich in folgender Weise interpretieren: Ein Blatt von ‘WGG-Mutante’ besitzt im Durchschnitt einen weiß-gelben (L1-bürtigen) Rand von 1,14 mm Breite. Die Randbreite von ‘Laurentii’ errechnet sich als Summe der 1,14 mm plus der zusätzlichen Komponente Blattbreite in cm multipliziert mit 1,21. Auch hier ist zu beachten, daß die gewonnenen Erkenntnisse nur für einen Blattbreitenbereich von 4 bis 9 cm statistisch gesicherte Gültigkeit haben.

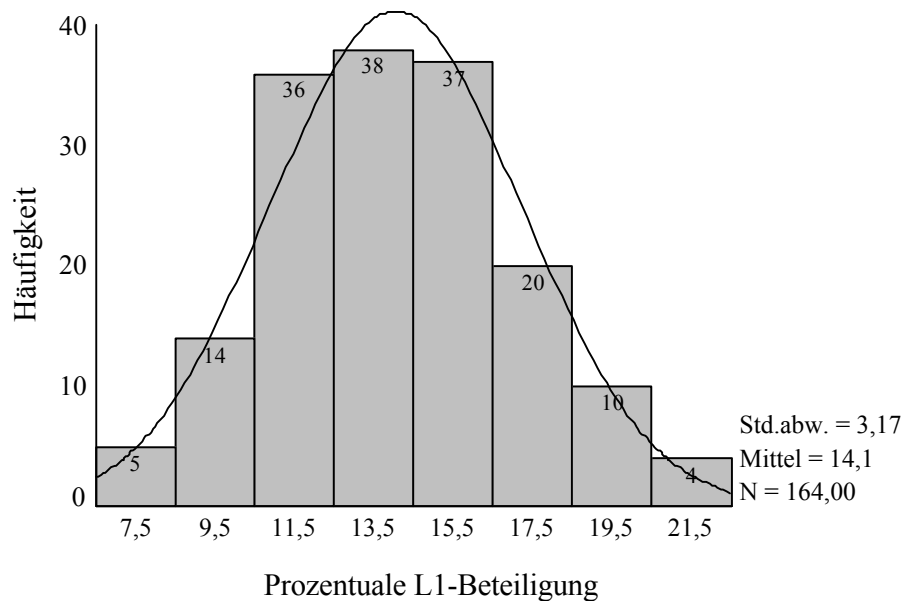


Abb. 4.9

Histogramm der L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung im ausdifferenzierten Blatt

In Sproßscheitelquerschnitten von ‘Laurentii’ wurde versucht, die prozentuale L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung in den Blattanlagen zu messen. Gleiche Analysen erfolgten im ausdifferenzierten Blatt. Abbildung 4.9 zeigt die Häufigkeitsverteilung der prozentualen L1-Beteiligung für dieses Entwicklungsstadium. Alle Werte folgen deutlich einer Normalverteilung. Die durchschnittliche Blattbreite der untersuchten Pflanzen lag bei 5,8 cm (Standardabweichung: 1,02 cm ; Minimum: 3,7 cm ; Maximum: 8,4 cm)

Während bei DDD-Formen das Blatt zum Rand hin immer dünner wird, wölbt sich das Blatt bei ‘Laurentii’ am “Grün-Weiß-Übergang“ noch einmal nach oben und unten auf. Unter dem Mikroskop wurde das Verhältnis zwischen der Dicke im weißen und im grünen Blattbereich gemessen (Abb. 4.10). Wenngleich die absoluten Werte recht unterschiedlich waren, so lag das Verhältnis weiß/grün für alle untersuchten ‘Laurentii’-Blätter in einem relativ engen Bereich. Das statistische Mittel ergab einen Wert von 1,35.

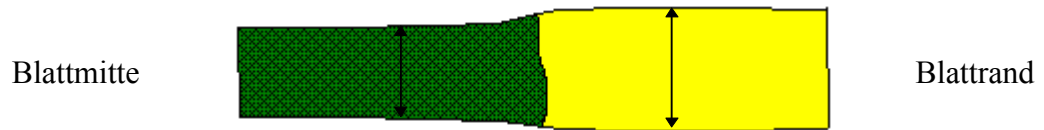


Abb. 4.10

Messungen der Blattdicke in der Übergangszone von diploid, grünem zu tetraploid, weiß-gelben Gewebe bei 'Laurentii'

4.1.2.2. Zellzählungen

Auf mikroskopischer Ebene sind zunächst Zellzählungen durchgeführt worden. An je 50 etwa gleichgroßen, zwischen 6 und 7 cm breiten *Sansevieria*-Blättern von 'Laurentii' sowie 'WGG-Mutante' wurde die Anzahl der Epidermiszellen von der Blattspitze bis zum Übergang weiß-grün gezählt. An jedem Blatt erfolgten also zwei Zählungen (Ober- und Unterseite des Blattes). Auf Zählungen im Mesophyllbereich wurde verzichtet, da die Zellgröße in diesem Bereich sehr stark variiert.

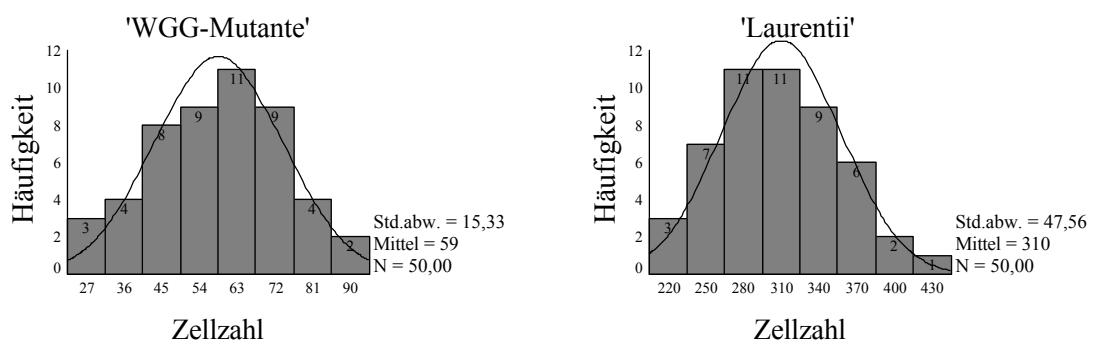


Abb. 4.5

Häufigkeitsverteilungen für Zählungen der Epidermiszellen über weißem Rand

Häufigkeitsverteilungen der Zellanzahl für beide *Sansevieria*-Typen sind in Abbildung 4.11 ersichtlich. Das arithmetische Mittel liegt für die 'WGG-Mutante' bei 58 und für 'Laurentii'

bei 310 Zellen über dem weißen Mesophyll. 'Laurentii' besitzt also für eine Blattbreite zwischen 6 und 7 cm mehr als 5 mal so viele Epidermiszellen über dem weißen Randbereich (L1-bürtiges Mesophyll). Die absolute Standardabweichung beträgt 17 Zellen für die DDD-Form und 52 Zellen für 'Laurentii'. Da sich die Mittelwerte stark unterscheiden, wurde auch die relative Standardabweichung (Verhältnis von absoluter Standardabweichung zum Mittelwert kalkuliert.) Diese liegt für die DDD-Form bei 26%, für 'Laurentii' bei 15%.

4.1.2.3. Größenmessungen an einzelnen Zellen

Für die Analyse der Gewebekonkurrenz zwischen tetraploidem und diploidem Gewebe sind die Größenverhältnisse der Zellen von besonderem Interesse. Das sich der Epidermis unmittelbar anschließende Mesophyll ist palisadenförmig. Die Zellwände verlaufen im Blattquerschnitt betrachtet relativ parallel zueinander. Tiefere Mesophyllschichten weisen in der gleichen Betrachtungsebene runde Zellstrukturen auf. Außerdem nimmt die Größe der Mesophyllzellen unabhängig von der Ploidiestufe vom Blattrand zur Blattmitte zu.

Studiert man nun das Mesophyll in der Aufsicht, werden sich in der ersten Mesophyllschicht also relativ wenig Meßfehler ergeben. In den nachfolgenden Mesophyllschichten allerdings hat die eingestellte Betrachtungsebene einen stärkeren Einfluß auf das Meßergebnis (Zellausdehnung). Im Randbereich angeschnittene Zellen erscheinen kleiner, während in der Mitte geschnittene Zellen die volle (maximale) Größe besitzen. Um Meßfehler zu vermeiden, sind die Untersuchungen auf die Epidermiszellen und die äußerste Mesophyllschicht konzentriert worden.

Die Grafiken in Abbildung 4.12 verdeutlichen den Unterschied zwischen diploiden und tetraploiden Zellen in Länge und Breite. Unter Länge wird hier die Ausdehnung der Zelle in Längsrichtung des Blattes, unter Breite analog die Ausdehnung in Breitenrichtung verstanden. Länge und Breite wurden jeweils simultan in der Aufsicht (Epidermisabzug) gemessen. Bei Messungen an Epidermiszellen sind je zehn Blätter von 'Laurentii' und zehn Blätter von 'WGG-Mutante' untersucht worden. An jedem Blatt erfolgten 20 Messungen pro Ausdehnungsrichtung.

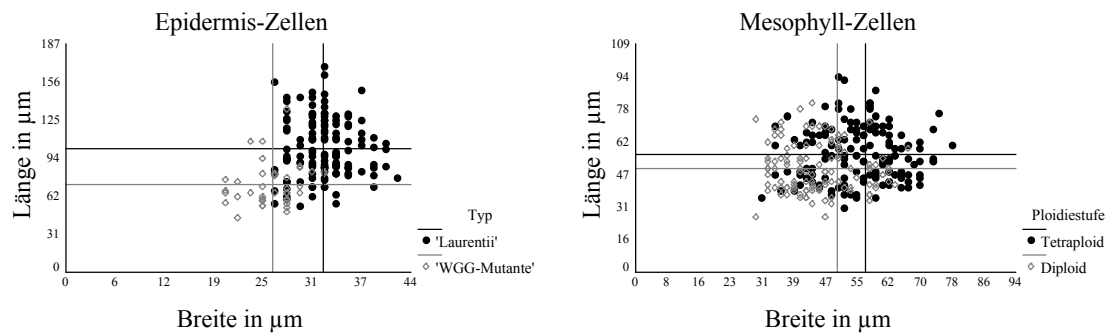


Abb. 4.6
Längen- und Breitenmessungen an Epidermis- und Mesophyllzellen

Um andere Einflußfaktoren möglichst auszuschalten, wurden die Messungen an gleichgroßen und vor allem gleichbreiten Blättern (6-7 cm), an etwa gleicher Stelle im Blatt vorgenommen. Zur Ermittlung des Einflusses der Tetraploidie auf die Bildung L1-bürtigen Mesophylls brauchte nicht auf ‘WGG-Mutante’ als Kontrolle zurückgegriffen werden. Hier erwies sich ein Vergleich der grünen (L2-bürtig) und weißen Mesophyllzellen (L1-bürtig) von ‘Laurentii’ als geeigneter (Abb. 4.7).

Neben Länge und Breite wurde als dritte Dimension noch die Tiefenrichtung der Zellen ge-

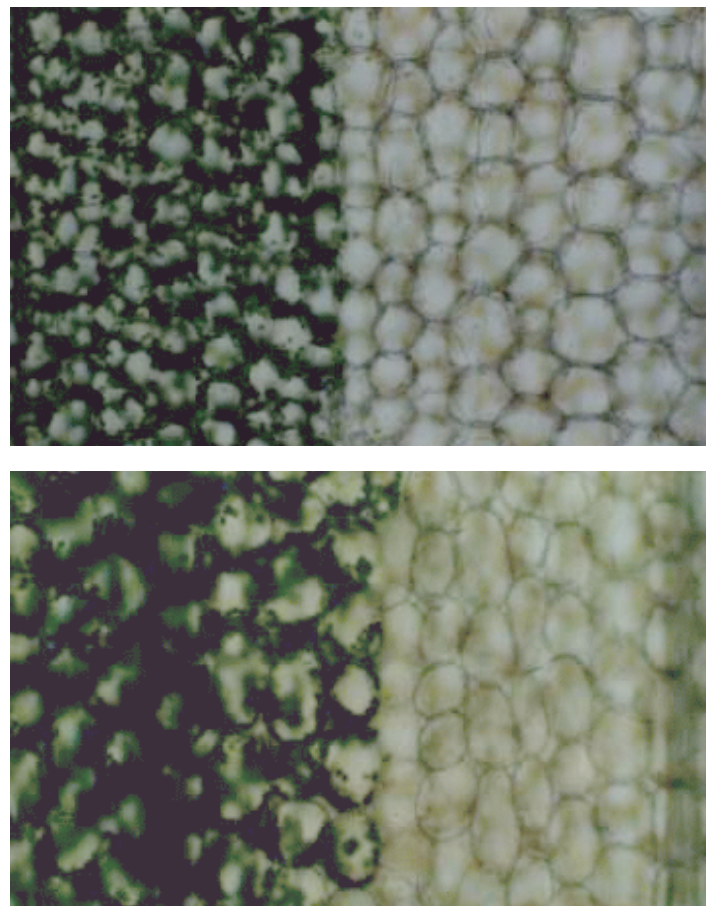


Abb. 4.7
Übergangsbereich im Blattmesophyll (Palisadenschicht, Aufsicht), oben: ‘Laurentii’, unten: ‘WGG-Mutante’ (verschiedene Vergrößerungen)

messen. Dazu war die Anfertigung von Blattquerschnitten erforderlich. Abbildung 4.14 zeigt vergleichbare Ausschnitte aus dem grünen sowie aus dem weißen Bereich des Mesophylls von 'Laurentii'. Deutlich erkennbar übertreffen die weißen Zellen ihre grünen Nachbarzellen an Breite und Tiefe. (Die als Länge definierte Ausdehnung kann bei Querschnitten nicht ermittelt werden.)

Den Einfluß der tetraploiden L1 auf die Änderung aller drei erfaßten Zelldimensionen in der Epidermis veranschaulicht Abbildung 4.15 (S.37). Die Werte für die einheitlich diploide 'WGG-Mutante' sind dabei gleich 100% gesetzt worden.

Wie zu sehen, erfolgt die Ausdehnung der Epidermiszellen nicht proportional. Länge und Tiefe der Epidermiszellen nehmen wesentlich stärker zu als die Breite. So ist der prozentuale Betrag der Zellausdehnung für Länge und Tiefe doppelt so groß (Breite: 24%; Länge: 41%; Tiefe: 49%).

Ein anderes Bild ergibt sich für die Mesophyllzellen. Hier ist die Zunahme in allen Richtungen gleichmäßiger (Zuwachs: 14 - 22%). Der höchste Zuwachs erfolgt in der Breite (Abb. 4.10).

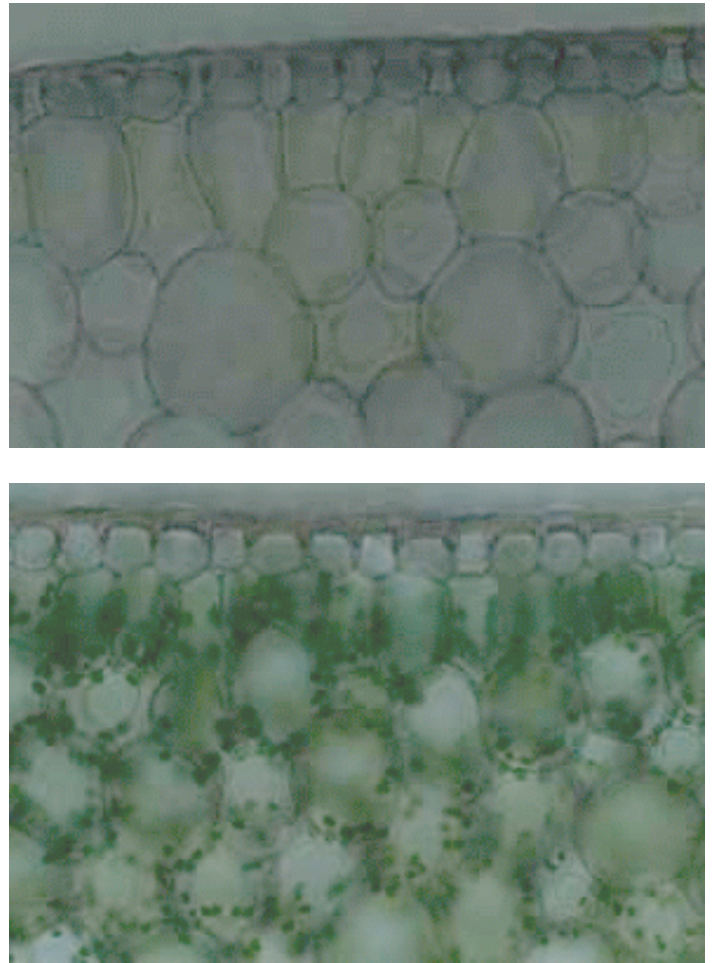


Abb. 4.8

Ausschnitte aus Blattquerschnitten bei 'Laurentii', oben: weißer Bereich, unten: grüner Bereich (gleiche Vergrößerung)

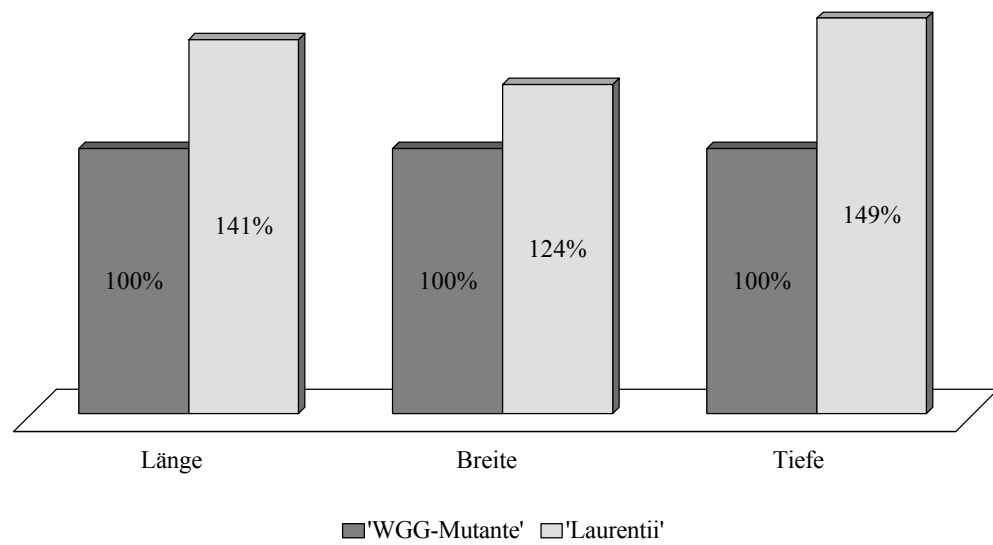


Abb. 4.9
Vergleich der Epidermiszellen

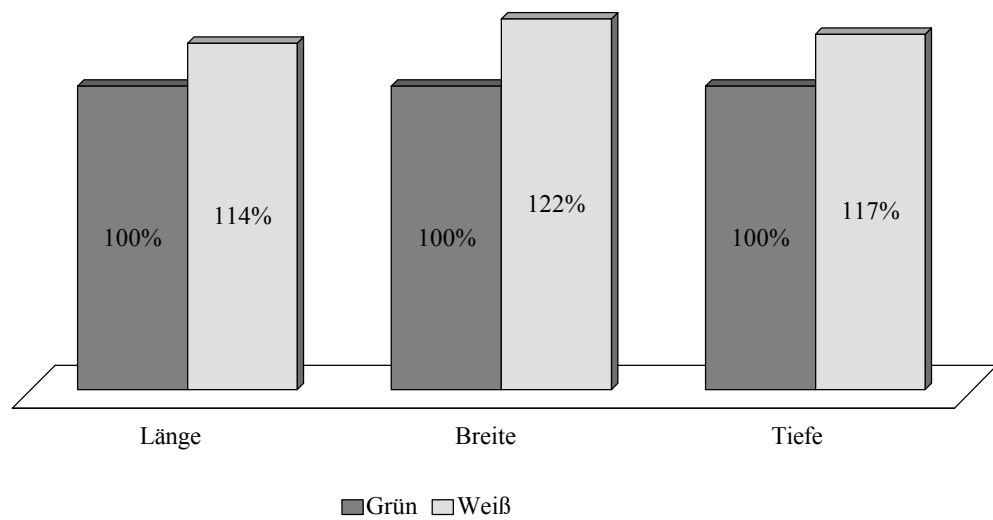


Abb. 4.10
Mesophyllzellenvergleich an 'Laurentii'

4.1.2.4 Untersuchungen an Meriklinalchimären

Im Bestand von 50 kolchizinierten *Sansevieria trifasciata* 'WGG-Mutante' wurden vereinzelt Meriklinalchimären gefunden. Die Zuordnung als Meriklinalchimäre erfolgte zunächst nur anhand des Phänotyps. Abbildung 4.17 (rechte Seite) zeigt das äußere Erscheinungsbild eines Blattes. Deutlich erkennbar findet sich ein schmaler L1-bürtiger Rand an der linken und ein breiter an der rechten Blattseite. Folgende Arbeitshypothese ließ sich damit aufstellen: Die L1 besitzt sowohl diploiden als auch tetraploiden Charakter. Im tetraploiden Bereich tritt ein breiter weißer Rand auf während der diploide Bereich zu einem schmalen L1-bürtigen Rand führt.

Auf mikroskopischer Ebene konnte der meriklinalchimärische Charakter des L1-bürtigen Gewebes bestätigt werden. Epidermisabzüge im Übergangsbereich zeigen deutlich unterschiedlich große Epidermiszellen und deutlich unterschiedlich große Schließzellen (Abb.4.17 linke Seite).

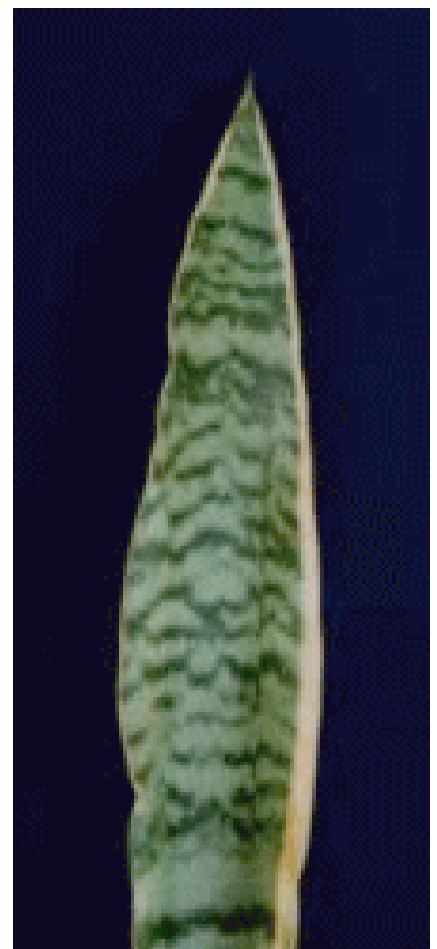
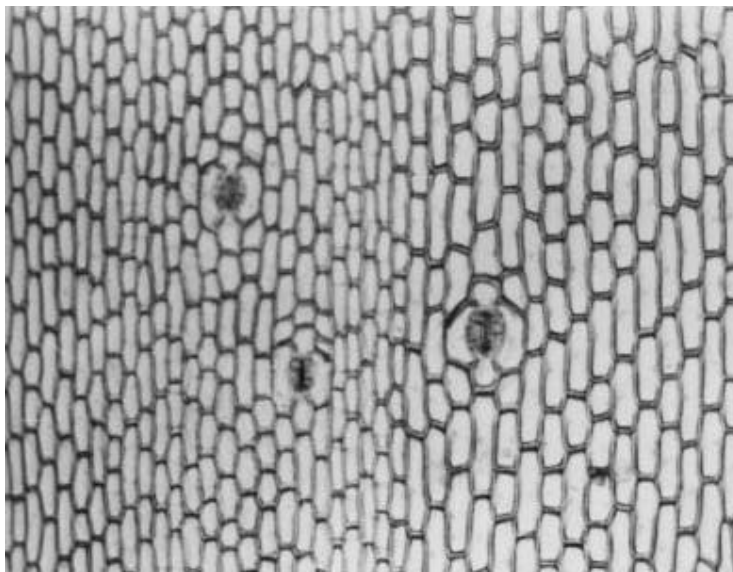


Abb. 4.11

Meriklinalchimäre von *Sansevieria*,
rechts: Phänotyp eines Blattes
links: Epidermisabzug

Meriklinalchimären sind besonders geeignet, um die Gewebekonzurrenz innerhalb einer Schicht zu untersuchen. An vorliegenden Exemplaren wurden an verschiedenen Stellen (Höhe) Epidermisabschnitte vorgenommen. Im Gegensatz zu anderen Blättern zeigten die meriklinalchimärischen Blätter eine starke längsgerichtete Riffung an der Oberfläche, was die Anfertigung dieser Epidermisabschnitte erschwerte.

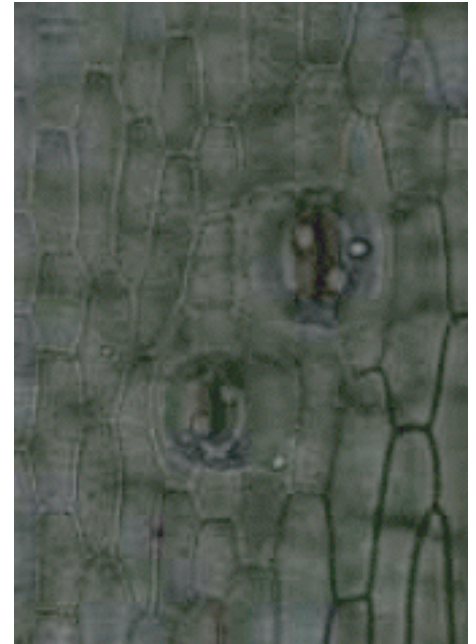
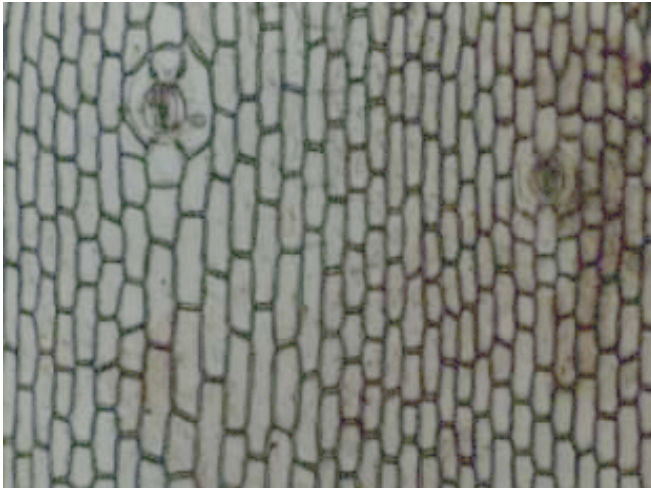


Abb. 4.12

Kolchizinierte *Sansevieria* links: Epidermis mit mehreren Ploidiegrenzen, rechts: di- und tetraploide Stomata nebeneinander

Die Analyse der Meriklinalchimären ergab, daß nicht nur e i n e Grenze zwischen di- und tetraploidem Gewebe vorhanden sein muß. Vielmehr wechseln sich die Gewebe beider Ploidiestufen mehrmals ab (Abb. 4.12, links). An mehreren Stellen ließen sich diploide und tetraploide Bereiche deutlich unterscheiden. Gut zu erkennen sind auch die unterschiedlichen Größen der Schließzellen, die sich zur Ploidieidentifizierung in diesem Fall bestens eignen (Abb. 4.12, rechts).

Allerdings sind in den gut analysierbaren Bereichen der Epidermisabschnitte nicht immer Spaltöffnungen zu finden. Die Epidermiszellen streuen auch bei einheitlicher Ploidiestufe relativ stark in ihrer Größe. In Abbildung 4.19 ist ein Ausschnitt eines Epidermisabschnittes dargestellt. In der Bildmitte befindet sich ein Streifen tetraploiden Gewebes, welcher an beiden Seiten an diploide Epidermiszellen grenzt. Trotzdem ist die Abgrenzung nach links deutlicher erkennbar, die Abgrenzung nach rechts aber eher fließend.

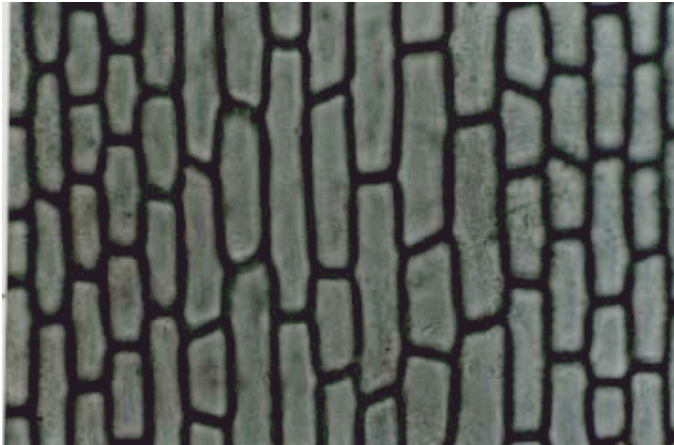


Abb. 4.13

Tetraploider Gewebestreifen mit scharfer Abgrenzung zu diploidem Gewebe (rechts) und eher fließendem Übergang (links)

Um eventuelle Verdrängungen während der interkalaren Wachstumsphase zu erfassen, wurde der Verlauf tetraploider, L1-bürtiger Streifen (Abb. 4.13) in ausdifferenzierten Blättern untersucht. Dazu wurden Epidermisabschnitte angefertigt. Die gemessenen, tetraploiden Gewebestreifen hatten eine Breite zwischen 3 und 50 nebeneinander befindlichen Zellreihen und eine Länge zwischen 2 und 3 cm. An beiden Längsenden der Streifen wurde die Breite gemessen. Die Kalkulation der prozentualen Verdrängung des tetraploiden Gewebes erfolgte nach folgender Formel:

$$(3) \quad V(\%) = \frac{b_{\text{unten}} - b_{\text{oben}}}{l} \times 100\%,$$

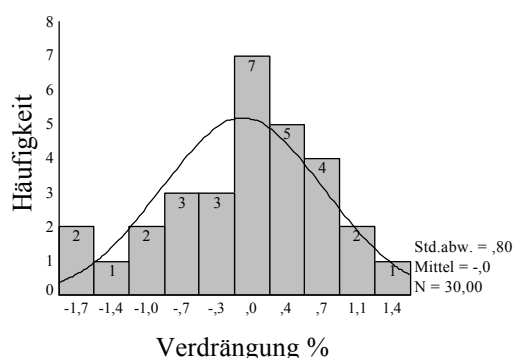


Abb. 4.20

Häufigkeitsverteilung der Verdrängung tetraploiden Gewebes

wo “b“ für die Breite, “l“ für die Länge des Streifens und “V(%)“ für prozentuale Verdrängung steht. Das oben befindliche Gewebe ist älter, da die Blätter im ausdifferenzierten Stadium über ein Blattbasismeristem wachsen. Findet eine Verdrängung von diploidem durch tetraploides Gewebe statt, muß die Differenz $b_{\text{unten}} - b_{\text{oben}}$ positiv sein. Positive Werte für V(%) bedeuten also eine Überlegenheit des tetraploiden Gewebes. In Abbildung 4.20 ist die Häufigkeitsverteilung der ermittelten prozentualen Verdrängungswerte dargestellt.

Das arithmetische Mittel ist annähernd Null. Die Verteilung folgt in etwa einer Normalverteilung. Abweichungen davon resultieren in erster Linie vom geringen Stichprobenumfang.

4.2 *Peperomia obtusifolia*

Für die Untersuchungen an *Peperomia obtusifolia* wurde folgende Arbeitshypothese aufgestellt: ‘Golden Gate’ ist eine “GWG/TDD-Chimäre“, während ‘GWG-Mutante’ einheitlich diploid ist. Diese Hypothese läßt sich anhand der in Kapitel drei beschriebenen phänotypischen Merkmale gut begründen. So stehen dem deutlich ausgeprägten grünen Rand von ‘Golden Gate’ nur

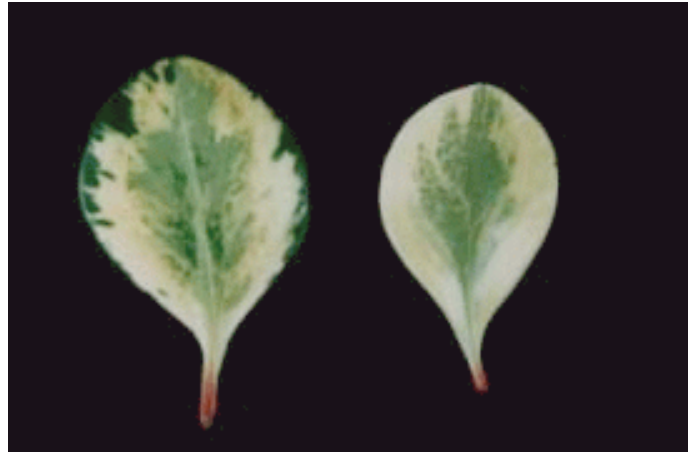


Abb. 4.21

Blätter von *Peperomia obtusifolia*,
links: ‘Golden Gate’, rechts: ‘GWG-Mutante’

kleine und vereinzelt vorkommende grüne “Ecken“ oder “Kanten“ von der GWG-Mutante gegenüber (Abb. 4.). Ähnlich wie bei ‘Laurentii’ wurde das Vorhandensein einer doppelten Markierung abgeleitet.

Zunächst wurden die Stomata für die Typen ‘Golden Gate’, ‘GWG-Mutante’ sowie für eine ‘VVV-Variante’ und die grüne Kontrolle untersucht. Tabelle 4.6 zeigt die Mittelwerte für die Länge der Schließzellen und die Anzahl der Chloroplasten. ‘Golden Gate’ besitzt statistisch signifikant (t-Test) größere Schließzellen im Vergleich zu ‘GWG-Mutante’. Damit ist eine höhere Ploidiestufe in der L1 von ‘Golden Gate’ wahrscheinlich. Zwischen ‘Golden Gate’ und ‘GGG-Kontrolle’ konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Eine variegated Pflanze (‘VVV-Mutante’) mit phänotypisch gleichen Blättern wie ‘GWG-Mutante’ zeigte ebenfalls keine Unterschiede zu ‘Golden Gate’ in der Größe der Schließzellen.

Tabelle 4.6 Mittelwerte der Schließzellenanalysen an *Peperomia obtusifolia*

Typ	Länge in μm	Chloroplasten pro Schließzelle
‘Golden Gate’	30,9	20,4
‘GWG-Mutante’	20,4	nicht erfaßt
‘VVV-Mutante’ ¹	30,3	nicht erfaßt
‘GGG-Kontrolle’	30,2	21,6

¹ Messungen an Blättern mit Phänotyp wie ‘GWG-Mutante’

Im weiteren Verlauf wurden Analysen auf der Ebene des Sproßscheitels durchgeführt. Bei *Peperomia* erfolgte eine Einbettung in Paraffin und Kunststoff. Da die Paraffinpräparate (Carnoyfixierung) keine ansprechenden Ergebnisse lieferten, bei Kunststoffeinbettung aber gute Schnittbilder erzielt werden konnten, wurde vorwiegend mit letzterer Methode gearbeitet. Der schärfste Kontrast zwischen Zellkern, Zellwand und Einbettungsmittel (Technovit) wurde bei Schnittstärken von 5-7 μm und einer Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield erreicht. Die günstigste Färbedauer lag bei 20 Minuten. Bei längerem Einfärben werden die teilungsaktiven Bereiche meist zu

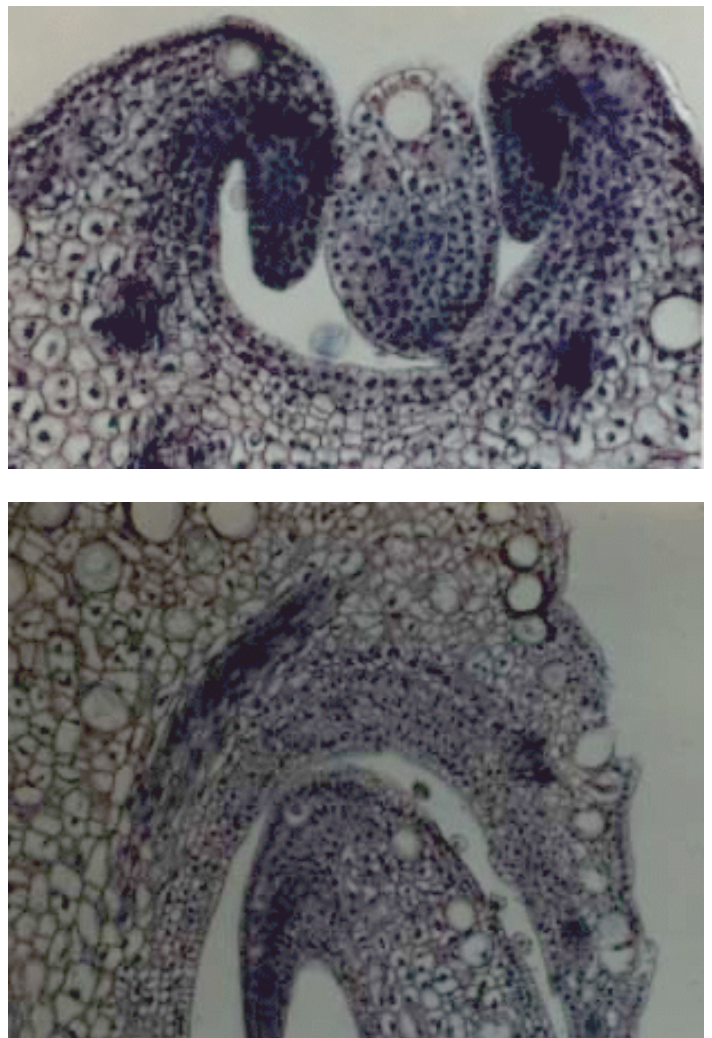


Abb. 4.14

Peperomia obtusifolia ‘Golden Gate’, oben: Querschnitt durch junges Blatt, unten: Längsschnitt

dunkel, so daß kein guter Kontrast sichtbar ist.

Mikroskopische Analysen der Schnittbilder von 'Golden Gate' ergaben unerwartete Ergebnisse. So konnte zwischen der L1 und den inneren Schichten (L2, L3) kein Ploidieunterschied abgelesen werden. Die Zellkerne aller Schichten lagen in gleichen Größenbereichen (Abb. 4.14). Diese Erkenntnis wurde ohne Ausnahme bei allen Schnitten von 'Golden Gate' erreicht. Damit wurde die Hypothese einer Ploidiechimäre für 'Golden Gate' in Frage gestellt.

Aufgrund der gleichen Kerngrößen erwies sich die Identifizierung der Schichten in jungen Entwicklungsstadien als sehr schwierig. Trotzdem können anhand der Zellstrukturen einige Aussagen getroffen werden. Die Schnittbilder von 'Golden Gate' zeigen perikline Teilungen der L1 schon im Stadium des jüngsten Blattes. So vervielfältigt sich das L1-bürtige Gewebe regelmäßig bei allen *Peperomia*-Typen im Bereich der später blattoberseitigen Epidermis (Abb. 4.14).

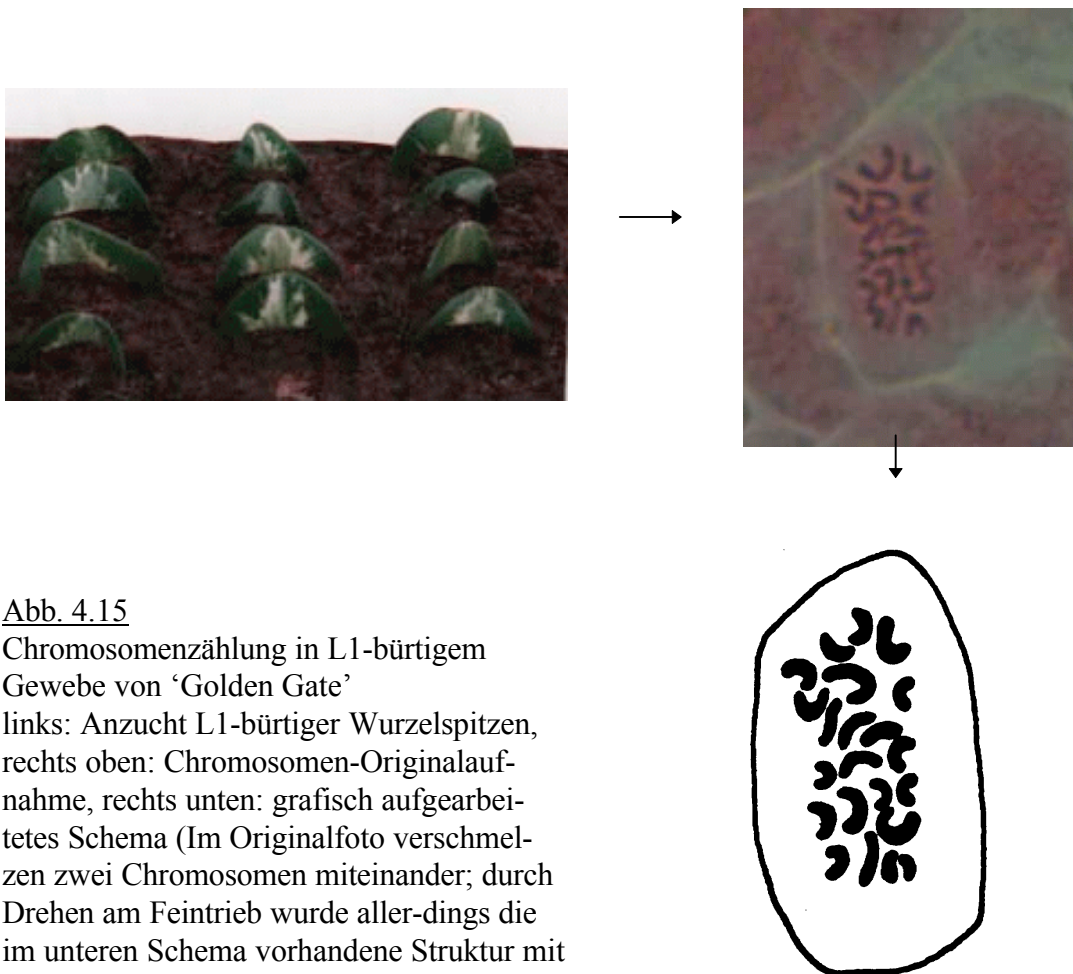


Abb. 4.15

Chromosomenzählung in L1-bürtigem Gewebe von 'Golden Gate'

links: Anzucht L1-bürtiger Wurzelspitzen, rechts oben: Chromosomen-Originalaufnahme, rechts unten: grafisch aufgearbeitetes Schema (Im Originalfoto verschmelzen zwei Chromosomen miteinander; durch Drehen am Feintrieb wurde allerdings die im unteren Schema vorhandene Struktur mit 22 Chromosomen festgestellt.)

Für eine Klärung der tatsächlichen Ploidiestufe der L1 von 'Golden Gate' war eine Chromosomenzählung unumgänglich. Wurzelspitzen entstammen in der Regel dem L3-bürtigen Bereich. Um L1-bürtige Spitzen zu erhalten, wurden *Peperomia*-Blätter in der Mitte ausgeschnitten und in ein Erdgemisch eingesteckt (siehe Abb. 4.15). Das Ausschneiden erfolgte so, daß nur grüne Randbereiche Erdkontakt hatten. Nach 18 Tagen wurden die Wurzelspitzen um Mittagszeit bei guter Sonneneinstrahlung entnommen und entsprechend der in Kapitel drei beschriebenen Methode weiterbehandelt. An zehn verschiedenen Wurzelspitzen wurden an mehreren Stellen jeweils um die 20 Chromosomen gezählt. Eine genaue Auszählung ergab 22 Chromosomen (Abb. 4.15). Damit ist der diploide Status der L1 von 'Golden Gate' bewiesen. NIEMEYER (1991) hatte 24 Chromosomen für unbehandelte *Peperomia obtusifolia* und 45-48 Chromosomen für kolchizinbehandelte Mutanten gezählt.

4.3 *Pelargonium zonale*

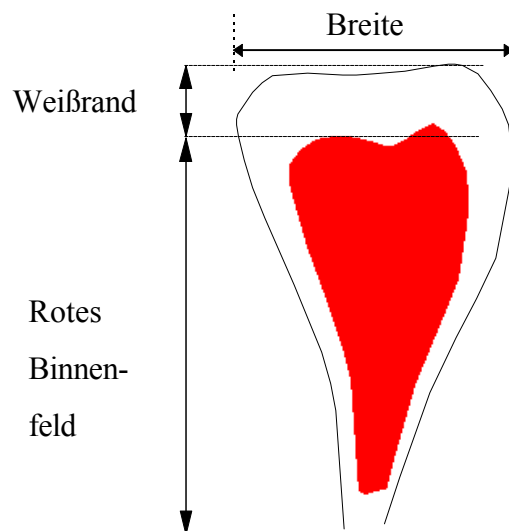


Abb. 4.24
Blütenblattmessungen bei *Pelargonium zonale* 'Rosa Liebling'

Pelargonium zonale 'Rosa Liebling' gehört zu den Objekten mit einfacher, teilweise auch doppelter Markierung. Es handelt sich dabei sowohl um Ploidiemarkierungen als auch um Farbmarkierungen. Die Farbmarkierungen sind Defekte in der Anthozyanabildung (Blütenfarbstoff).

Obwohl die Untersuchungen an *Pelargonium* nur von geringem Umfang waren, sollen die gefundenen Dinge kurz dargestellt werden, da sich diese Pflanze für weitere Arbeiten anbietet.

An der Sorte ‘Rosa Liebling’ wurden Blütenblattmessungen entsprechend dem dargestelltem Schema (Abb. 4.) vorgenommen. Verglichen wurden dabei die Formen HHH, DDD und TTT, wobei “H“ für haploid, “D“ für diploid und “T“ für tetraploid steht.

Die Abbildungen 4.25 - 4.27 widerspiegeln die Ergebnisse der durchgeführten Messungen. Dabei zeigt sich, dass die äußeren Dimensionen der Blütenblätter von der haploiden Stufe bis zur diploiden Stufe stark zunehmen, bei Tetraploidie dann aber stagnieren.

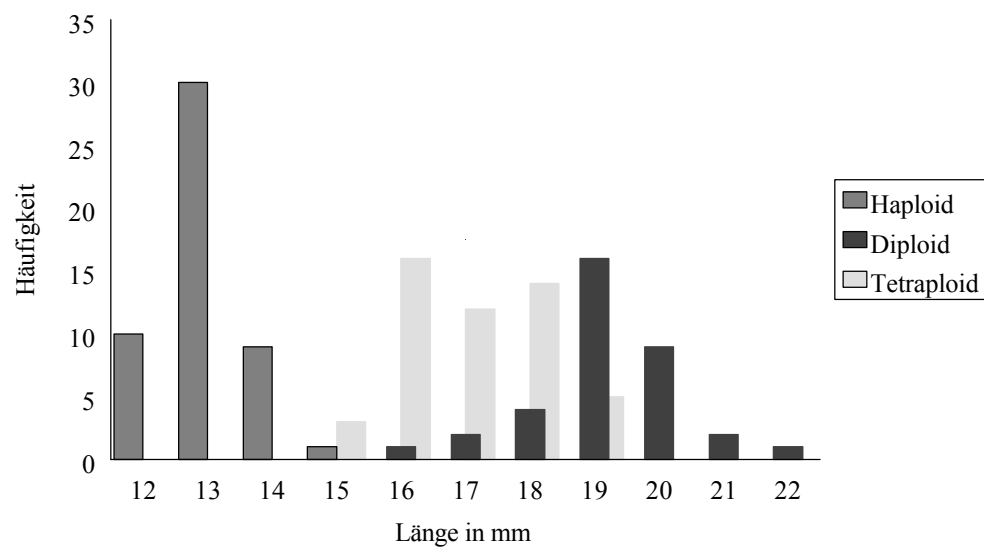


Abb. 4.16
Längenvergleich der Petalen von ‘Rosa Liebling’

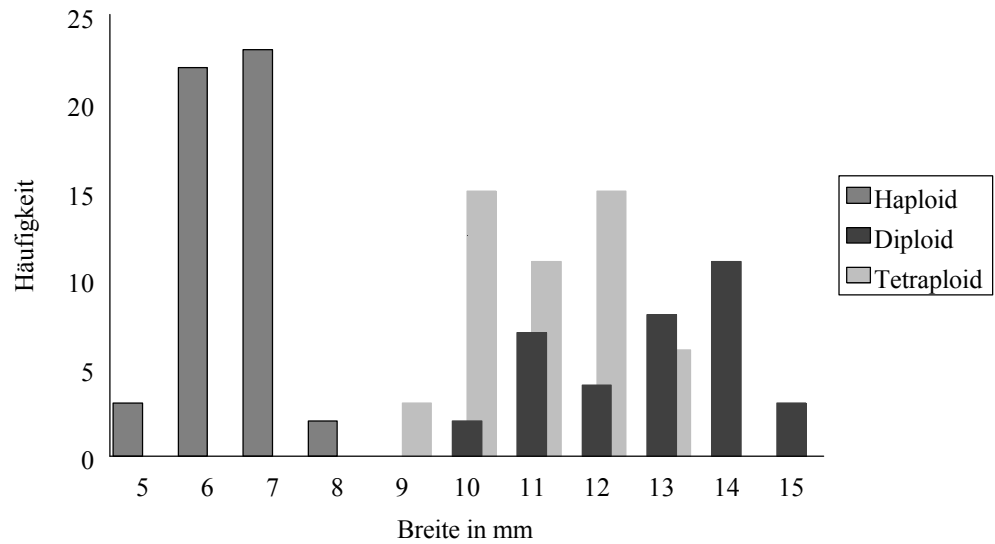


Abb. 4.26
Breitenvergleich der Petalen von 'Rosa Liebling'

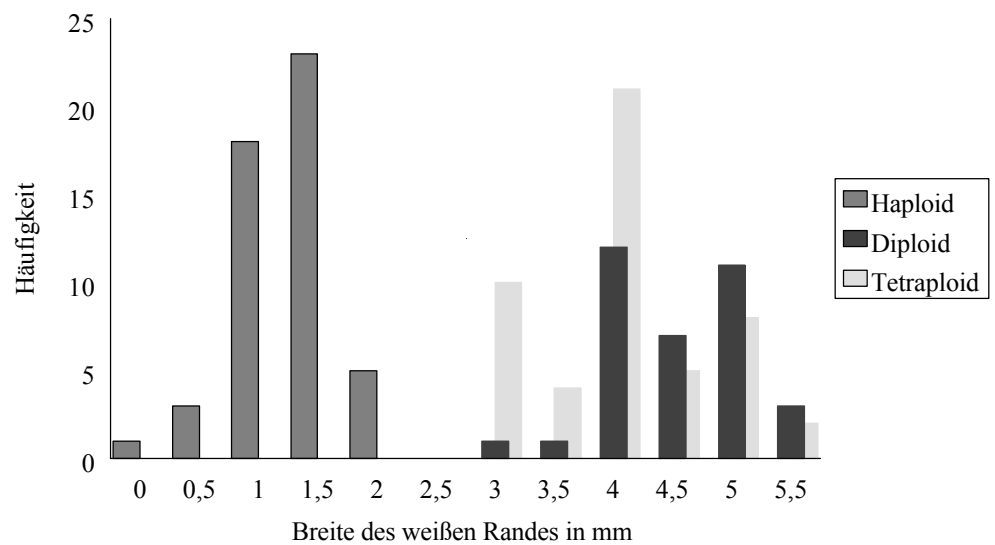


Abb. 4.27
Vergleich der Breite des weißen Randes von 'Rosa Liebling'

5 DISKUSSION

5.1 Der Prozeß der Gewebekonkurrenz

Der innerhalb eines Organismus ablaufenden Gewebekonkurrenz ist bisher wenig Aufmerksamkeit in der Forschung entgegengebracht worden. Häufig wurde dieses Phänomen nur benutzt, um unerwartete Ergebnisse bei Mutationsexperimenten wie zum Beispiel das Verschwinden von Mutationen (u.a. GAUL, 1961) zu erklären. OLBRICHT (1994) beweist unter Zuhilfenahme der Gewebekonkurrenz die chimärische Natur einer *Petunia*-Blüte. Deren sternförmiges Muster war im Nachfeld eines 1992 in Köln durchgeführten Freisetzungsversuches aufgetreten und konnte zunächst nicht interpretiert werden.

Die vorliegende Arbeit stellt den Prozeß der Gewebekonkurrenz in den Mittelpunkt der Untersuchungen. Bei einem geschichteten Aufbau des Sproßscheitels mit mehreren Initialzellen pro Schicht läßt sich die Gewebekonkurrenz in zwei grundsätzliche Vorgänge unterteilen. Genetisch unterschiedliche Gewebe können einerseits innerhalb einer Schicht (Meriklinalchimären), andererseits aber auch zwischen den Schichten (Periklinalchimären) existieren und miteinander im Wettstreit stehen.

Liegen mutierte und normale Initialzellen in einer Schicht, werden sporophytische Selektion oder sporophytische Drift wirksam. Der benachteiligte (oder in benachteiligter Position sitzende) Genotyp wird vollständig verdrängt. Dafür reicht es aus, daß die mutierten (oder die normalen) Initialzellen etwas "weggedrückt" werden. Bei einem Initialfeld von konstanter Größe kommt es so früher oder später zum Ausschluß der benachteiligten Zellen aus der aktiven Teilungszone. Eine sporophytische Balancierung im Sinne der Ausbildung eines stabilen "Sektorengleichgewichtes" ist bei Meriklinalchimären bisher nicht beobachtet worden. Vielmehr führt die histogenetische Entwicklung entweder zurück zu genetisch uniformen Pflanzen oder zu Periklinalchimären.

Der Konkurrenzprozeß bei Periklinalchimären läuft unter anderen Rahmenbedingungen ab. Da sich innerhalb einer jeden Schicht genetisch gleiche Zellen befinden, ist ein leichtes seitliches "Wegdrücken" von apikalen Zellen wirkungslos. Verdrängungen sind nur möglich, wenn die Teilungsrichtung verändert wird (Verdrängung nach innen) oder wenn durch ausreichenden vertikalen Druck äußere Schichten zerrissen werden (Verdrängung nach außen). Für die vollständige Eliminierung eines in einer bestimmten Schicht vorkommenden Gewebetyps müssen bereits im Stadium des Sproßscheitels genügend "Verdrängungskräfte"

entwickelt werden. Die Existenz stabiler Periklinalchimären sowie die Untersuchungsergebnisse in dieser Arbeit belegen, daß dies ist bei vielen Pflanzen offenbar nicht der Fall ist. Trotzdem sind Konkurrenzwirkungen in Form von sporophytischer Balancierung nachweisbar (*Sansevieria trifasciata* 'Laurentii' - eigene Untersuchungen; *Petunia hybrida* - OLBRICHT, 1994) .

5.2 Ursachen der phänotypischen Besonderheiten bei 'Laurentii' und 'Golden Gate'

Wie in Kapitel zwei bereits beschrieben, ist Gewebekonkurrenz an chimärische Individuen gebunden. Eine aktive Verdrängung eines Genotypes kann dann stattfinden, wenn sich die chimärische Struktur auf entwicklungsbestimmende Merkmale erstreckt. Dazu zählen besonders Teilungshäufigkeit und Teilungsrichtung (POHLHEIM, 1983). Diese Merkmale können die Form und "genetische Zusammensetzung" von Organismen stark beeinflussen.

Mit *Sansevieria* 'Laurentii' und *Peperomia* 'Golden Gate' liegen zwei Pflanzentypen vor, deren phänotypische Ausprägung auf eine chimärische Natur im doppelten Sinne schließen läßt. Beide Sorten sind Farbchimären und zeigen eine für diese Pflanzenarten untypisch starke Ausprägung des L1-bürtigen Gewebes. Das bedeutet, die Bildung von L1-bürtigem Mesophyll im Blattrandbereich ist besonders intensiv.

Letztere Erscheinung ist nur durch einen genetisch bedingten Wachstumsgradienten zwischen der L1 und den inneren Schichten (L2, L3) zu erklären (= zweites chimärisches Merkmal). Die L1 besitzt einen Vorteil entweder durch eine höhere Ploidiestufe oder durch das Vorhandensein besonders wachstumsfördernder Gene. Natürlich ist es bei einem genbedingten Gradienten auch möglich, daß die inneren Schichten wachstumsgehemmt sind, während die L1 normal ausgeprägt ist.

Trotz ähnlicher Symptome führten die Untersuchungen an beiden Objekten zu unterschiedlichen Ergebnissen. Für *Sansevieria* kann eindeutig ein Ploidieunterschied festgestellt werden. Dies belegen sowohl direkte Chromosomenzählungen in der L1 und

L2 (VOIGTSBERGER, 1988), als auch Schnittbilder des Sproßscheitels (vgl. Kapitel vier). Die größeren Kerne in der L1 sind deutlich sichtbar.

Peperomia 'Golden Gate' hingegen ist in L1 und L2 einheitlich diploid. Wahrscheinlich ist die starke Randbeteiligung auf einen Gigaswuchs zurückzuführen, dessen Ursprung bei einem oder mehreren wachstumsbeeinflussenden Genen zu suchen ist.

5.3 Sporophytische Balancierung bei 'Laurentii'

5.3.1 Richtung der Verdrängungsprozesse

Da 'Golden Gate' sich nicht - wie vermutet - als Ploidiechimäre bestätigen ließ, konzentrierten sich die weiteren Untersuchungen auf 'Laurentii'. *Sansevieria trifasciata* 'Laurentii' ist eine Periklinalchimäre des Typs WGG/TDD. Der Chimärencharakter entsteht durch die genetische Verschiedenheit der drei Sproßscheitelschichten (L1, L2, L3). Innerhalb jeder Schicht findet sich jedoch die gleiche genetische Information.

Theoretisch kann mit zwei verschiedenen gerichteten Verdrängungseffekten gerechnet werden. Grünes Gewebe ist gegenüber weißem Gewebe bevorteilt, da letzterer Gewebetyp eine höhere Stoffwechselaktivität aufweist. Ein anderer Verdrängungseffekt wird durch die unterschiedliche Ploidiestufe ausgelöst. Hier ist das tetraploide Gewebe dem diploiden Gewebe überlegen.

Beide Effekte sind in ihrer Wirkung entgegengesetzt. Der Chlorophylldefekt benachteiligt die L1, während die Ploidiemarkierung die L1 bevorteilt. Zu beachten ist die Kopplung beider Effekte. Es kann keine gleichzeitige Verdrängung von "weiß" durch "grün" und von "diploid" durch "tetraploid" geben. Eine Verdrängung von "weiß" durch "grün" würde automatisch eine Verdrängung von "tetraploid" durch "diploid" mit sich ziehen. Umgekehrt knüpft sich an eine Verdrängung von "diploid" durch "tetraploid" automatisch eine Verdrängung von "grün" durch "weiß".

5.3.2 Einfluß der Farbmarkierung

Nachfolgend soll gezeigt werden, daß der Einfluß der Farbmarkierung hinsichtlich einer "Störung" oder Abschwächung des Ploidieeffektes nur gering ist. Einerseits besitzen

sowohl ‘Laurentii’ als auch die einheitlich diploide Kontrollvariante dieselbe Markierung. Der Vergleich der beiden Typen ergibt in der Differenz also den “reinen“ Ploidieeffekt. (Letztere Aussage setzt die Annahme voraus, daß der Farbeffekt nicht von der Ploidiestufe abhängig ist.)

Zum anderen existiert von *Sansevieria* eine GWG-Chimäre (umgekehrte Farbmarkierung), deren L1-Ausprägung etwa der von der WGG/DDD-Variante entspricht. Folglich besitzt der Farbeffekt keine große Wirkung. Histogenetisch lassen sich dafür zwei Erklärungen finden. Erstens erfolgt die Ausbildung der Chloroplasten relativ spät. Die Funktionsfähigkeit der Chloroplasten ist etwa ab drittem Blattprimordium (STRÄßBURGER, 1991) gegeben. Die Photosynthese setzt aber noch später ein, da die Umhüllung der jüngeren Blätter durch ältere einen ausreichenden Lichteinfall noch einige Zeit verhindert. Verdrängungen sind jedoch nur dann “erfolgreich“, wenn sie frühzeitig einsetzen.

Zweitens werden in der Epidermis von *Sansevieria* Chloroplasten nur in den Schließzellen ausgebildet. Der genetische Zustand der Epidermiszellen hinsichtlich der Chlorophyllausbildung hat deshalb keine praktischen Auswirkungen (wohl aber der Zustand der L1-bürtigen Mesophyllzellen.)

5.3.3 Druckverhältnisse im Sproßscheitel

Aus dem Vorangegangenen leitet sich ab, daß die Erscheinungen der Gewebekonkurrenz bei ‘Laurentii’ auf den Ploidieunterschied zurückgehen. Wie aber läßt sich nun der Verdrängungsprozeß im Einzelnen charakterisieren?

Ansätze zur Erklärung der Konkurrenz liefert die “Drucktheorie“ (u.a. KNY, 1902). ‘Laurentii’ besitzt eine tetraploide L1 über einer diploiden L2 und L3. Entscheidend für die Zellteilungsrichtung ist die Anordnung der Äquatorialebene in der Metaphase während der mitotischen Zellteilung. Die Einrichtung der Teilungsebene wird von genetischen sowie von Umweltfaktoren bestimmt. Viele Untersuchungen (KNY 1896, 1902; NEMEC, 1899; LINTILHAC, 1974 u.a.) deuten darauf hin, daß der von außen auf die Zelle einwirkende Druck einen wesentlichen Einfluß ausübt.

Im L1-bürtigen Gewebe vorkommende, tetraploide Zellen sind bestrebt, einen größeren Raum einzunehmen. Die Ausdehnung nach außen ist widerstandslos möglich. Einer

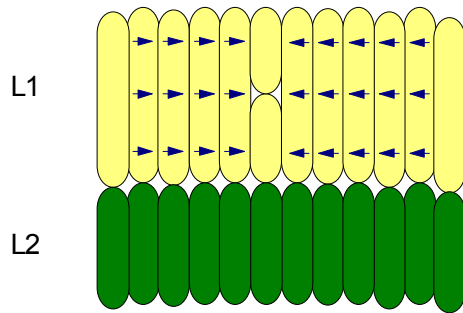


Abb. 5.1

Induktion einer periklinen Teilung in der L1 durch seitlichen Druck der Nachbarzellen (Schema)

seitlichen Ausdehnung steht allerdings Widerstand der benachbarten L1-Zellen entgegen. Diese können schwer seitlich “weggedrückt“ werden, da die L1 über Mittellamellen mit der L2, die “nur“ normalgroße Zellen ausbildet fest verbunden ist. (Räumlich betrachtet würde sich bei ungehindertem Wachstum aller Schichten ein Hohlraum zwischen der L1 und der L2 bilden). Infolge des Widerstandes baut sich ein seitlicher Druck auf die Initialzellen in der L1 auf (Abb. 5.1). Dieser erhöhte Druck

begünstigt die perikline Anlage der Zellteilungsebene und damit perikline Zellteilungen. Jede dieser Teilungen führt zu einer Entspannung des zwischen der L1 und der L2 bestehenden Wachstumsdifferentials. (Die aus periklinen Teilungen hervorgehenden Zellen füllen den Hohlraum aus, der bei unabhängigem Wachstum aller Schichten entstehen würde.)

Verdrängungswirkungen entstehen also einmal durch das Ausbilden von größeren Zellen sowie durch die Tendenz der L1, häufiger perikline Teilungen durchzuführen und damit auch verstärkt an der Mesophyllbildung beteiligt zu sein. Das Ausmaß dieses Vorgangs hängt vor allem davon ab, wie stark die Zellteilungsprozesse genetisch fixiert sind. Da bei der einheitlich diploiden Variante von *Sansevieria* ebenfalls perikline Teilungen der Epidermis im Blattrandbereich auftreten, ist eine genetische “Sperr“ für derartige Zellteilungen so gut wie auszuschließen.

5.3.4 Änderungen in der Zellteilungsgeschwindigkeit

Ein weiterer Verdrängungseffekt ist durch eine höhere Teilungsgeschwindigkeit eines der an der Konkurrenz beteiligten Gewebetypen möglich. Es stellt sich die Frage, ob Tetraploidie zu einer höheren Teilungsgeschwindigkeit führt, ob der Einfluß der Ploidiestufe gering ist oder ob tetraploides Gewebe in dieser Hinsicht dem diploiden Gewebe gar unterlegen ist. Hinweise dazu geben die Messungen der Blattstärke im Übergangsbereich.

Das tetraploide Gewebe ist hier durchschnittlich 1,35 mal stärker (dicker) als das diploide. Die L1-bürtigen Mesophyllzellen sind im statistischen Mittel 1,5 mal größer (Tiefenrichtung) als L2-bürtige. Das bedeutet, daß sich das tetraploide Gewebe nur 0,9 mal so schnell wie das diploide teilt. Mögliche Ursache dafür ist der aufwendigere Teilungsprozeß. Es müssen sich bei Tetraploidie die doppelte Anzahl an Chromosomen teilen, außerdem sind die zurückzulegenden Wege sind größer.

5.3.5 Zeitpunkt erster Verdrängungswirkungen

Zu welchem Zeitpunkt in der histogenetischen Entwicklung treten erste spürbare Verdrängungseffekte auf?

Um diese Frage zu beantworten, ist es günstig, die Konsequenzen zu analysieren, die mit einem früheren oder späteren Einsetzen der Verdrängung verbunden sind.

Perikline Teilungen in den Initialzellen des Sproßscheitels würden die vollständige Elimination des diploiden Gewebes ermöglichen (sporophytische Selektion). Reduplikationen in der L1 können zu WWG- und schließlich zu WWW-Formen führen. An 50 untersuchten Sproßscheiteln von 'Laurentii' wurden jedoch nur einmal perikline Teilungen in der L1

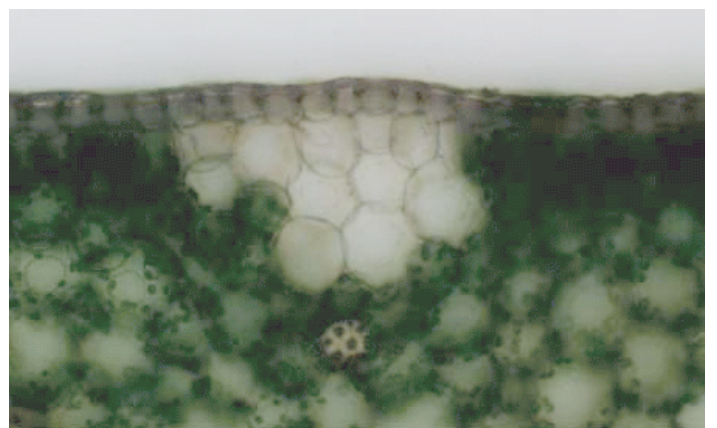
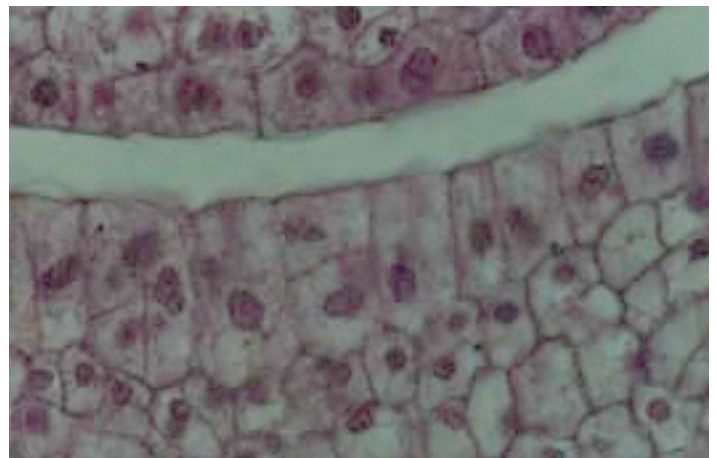


Abb. 5.2

oben: relativ späte perikline Teilung in der Epidermis (Blattrand) eines jungen Blattes von 'Laurentii', unten: mögliche Auswirkungen im ausdifferenzierten Blattstadium

wahrgenommen. Im gesamten Köpenicker Pflanzenbestand traten bisher keine Entmischungen an jüngeren Blättern von 'Laurentii' auf. Der entgegengesetzte Weg, die Verdrängung des tetraploiden Gewebes durch das innen liegende, diploide Gewebe wurde ebenfalls nicht festgestellt. Eine derartige Erscheinung wäre nur möglich, wenn das innere Gewebe durch ausreichend hohen Druck das äußere Gewebe zerreißt (Perforation). Zu dieser Annahme besteht jedoch kein Grund, da tetraploides Gewebe in den meisten Fällen wachstumsstärker als diploides Gewebe ist. Das Nichtauftreten von GGG/DDD-Pflanzen bestätigt diese Aussagen.

Die Hypothese einer hohen Stabilität der Schichtung im Sproßscheitel wird auch durch die kommerzielle Nutzung von 'Laurentii' untermauert, die nicht möglich wäre, wenn 'Laurentii' schnell entmischen würde.

Im Bereich des Initialfeldes sind die Verdrängungswirkungen folglich noch nicht stark genug, um die normalen Teilungsabläufe zu ändern. Bleibt die Schichtung im Sproßscheitel stabil, kann die Konkurrenz nur zu einer Änderung der räumlichen Verhältnisse zwischen den einzelnen Schichten (sporophytische Balancierung) führen.

5.3.6 Quantitatives Ausmaß

Die sporophytische Balancierung kann durch eine Änderung des Zellvolumens oder durch eine Änderung der Zellzahl pro Schicht erfolgen. Die Ergebnisse der Analysen zeigen, daß bei 'Laurentii' beides der Fall ist, daß der Effekt der höheren Anzahl an L1-bürtigen Mesophyllzellen aber überwiegt.

Entsprechend des in Kapitel vier gefundenen Zusammenhanges errechnet sich für ein 6 cm breites Blatt von 'Laurentii' ein L1-bürtiger Rand von 8,4 mm ($1,14 + 6 \cdot 1,21 = 8,4$), für die WGG/DDD-Variante einer von 1,14 mm (Durchschnittswerte). In diesem Fall besitzt 'Laurentii' also einen um das 7,3 fache breiteren weiß-gelben Rand als die diploide WGG-Chimäre. Für Blattbreiten von 4 und 9 cm errechnet sich ein Verhältnis der L1-bürtigen Ränder beider Typen von 5,2 bzw. 10,6 zugunsten von 'Laurentii'.

Die räumliche Ausdehnung der Zellen steigt bei Tetraploidie maximal bis auf das 1,5 fache. In der Breite nehmen die Mesophyllzellen im Durchschnitt um das 1,22 fache zu. Für ein 6 cm breites Blatt bedeutet dies, daß die Anzahl an L1-bürtigen Mesophyllzellen auf die Breite bezogen um das 6 fache zunimmt. Dementsprechend steigt die Anzahl für Blattbreiten von 4 und 9 cm um das 4,3 bzw. 8,4 fache gegenüber der diploiden Variante. Der Effekt der

vermehrten L1-bürtigen Mesophyllzellen schwankt demnach in Abhängigkeit von der Blattbreite, trotzdem ist er weitaus bedeutsamer als der Effekt der Zellvergrößerung. Mit anderen Worten, 'Laurentii' bildet ihren breiten weiß-gelben Streifen in erster Linie wegen der höheren Anzahl an L1-bürtigen Mesophyllzellen.

5.3.7 Kontinuität

Die oben dargelegten Kalkulationen nehmen auf Messungen Bezug, die in ausdifferenzierten Blattbereichen durchgeführt worden. Es eröffnet sich nun die Frage, ob sich der verstärkte L1-bürtige Rand bei 'Laurentii' kontinuierlich über alle Differenzierungsebenen bildet oder ob es bestimmte Entwicklungsstadien gibt, in denen verstärkt Verdrängungsereignisse - zum Beispiel perikline Teilungen der L1 - stattfinden ? Um diese Frage zu beantworten, muß zunächst ein Blick in die allgemeine Histogenese der Pflanzen geworfen werden. Perikline Teilungen können nur in solchen Bereichen erfolgen, wo sich Zellen aktiv teilen. Regionen mit hoher Teilungsaktivität sind insbesondere der Sproßscheitel, die Zone der Blattbildung sowie das interkalare Wachstumsmeristem, das sich bei Einkeimblättrigen an der Blattbasis befindet. Wie oben dargelegt, finden in der Scheitelregion keine oder nur sehr selten perikline Teilungen statt. Im Stadium der Blattdifferenzierung lassen sich dagegen schon des öfteren perikline Teilungen im späteren Blattrandbereich finden. Bei 'Laurentii' wurde die prozentuale L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung sowohl für ganz junge als auch für ausgewachsene Blätter kalkuliert. Die Randbreite von jeweils einer Seite des Blattes wurde dabei zur Gesamtblattbreite ins Verhältnis gesetzt. Der Vergleich beider Entwicklungsstadien bringt überraschende Ergebnisse. In den Blattanlagen ist die prozentuale L1-Beteiligung größer als in ausdifferenzierten Blättern. Bevor diese Erscheinung interpretiert wird, muß auf mögliche Fehlerquellen hingewiesen werden. An den jungen Blättern ließ sich trotz der Ploidiemarkierung (größere Zellkerne in der L1) nur schwer eine Schichtabgrenzung zwischen L1- und L2-bürtigem Gewebe vornehmen. Von 30 Scheitelquerschnitten wurden aufgrund undeutlicher Schnittbilder nur an vier Präparaten Analysen durchgeführt. Aber auch an diesen ausgewählten Objekten war die Unterscheidung der Schichten teilweise unscharf. An neun verschiedenen Stellen (erstes oder zweites Blatt) erfolgten Messungen der L1-Ausprägung.

Trotz der vorhandenen Subjektivität bei der Erfassung des L1-bürtigen Mesophylls in frühen Blattstadien lassen sich einige Schlußfolgerungen ziehen. Alle neun Präparate weisen eine prozentuale Beteiligung der L1-Komponente an der Blattbreite von 4 - 12% auf. Der durchschnittliche Wert liegt bei 10%. Es ist unwahrscheinlich, daß alle neun Messungen große Fehler aufweisen. Deshalb läßt sich schließen, daß der Prozeß der Verdrängung diploiden Gewebes durch tetraploides seinen Schwerpunkt während der Bildung der Blattanlagen hat. In der späteren Entwicklung scheint es eher eine rückläufige Tendenz zu geben (Abb. 5.3). Die durchschnittliche Beteiligung L1-bürtigen Gewebes an der Blattbreite beträgt im ausdifferenzierten Stadium etwa 8%. Dieser Wert ist durch den hohen Stichprobenumfang und die deutliche farbliche Abgrenzung der Schichtderivate mit wenig Unsicherheit behaftet. Ein Grund für eine möglicherweise rückläufige Tendenz der Verdrängung ist das Fehlen von funktionsfähigen Chloroplasten im L1-bürtigen Mesophyll. Im Scheitel und bei der Bildung der Blattanlagen spielt der Zustand der Chloroplasten keine Rolle, da sie ohnehin noch nicht ausdifferenziert sind. Später während des Breitenwachstums



der Blätter ist eine Wirkung allerdings nicht auszuschließen.

Die obigen Berechnungen zur "L1-Beteiligung" in den Blattanlagen beziehen sich nur auf 'Laurentii'. Schwierig erweist sich ein Vergleich zwischen 'Laurentii' und der diploiden 'WGG-Mutante'. Hauptgrund ist die nur mittelmäßige Eignung von *Sansevieria* für die Herstellung von Scheitelquer- und Längsschnitten. Die Zellstrukturen erscheinen in ihrer Form deutlich verändert (siehe Kapitel vier). Deshalb lassen sich die einzelnen Schichtderivate bei der DDD-Variante nicht auseinanderhalten, da die Zellstrukturen dort das einzige Hilfsmittel zur Identifizierung sind.

Abb. 5.3
Rückgang des L1-bürtigen Randes
im ausdifferenzierten Blatt

5.4 Fragestellungen für weiterführende Arbeiten

In Verbindung mit den durchgeführten Untersuchungen, Analysen und den daraus abgeleiteten Erkenntnissen tauchen neue Fragen auf. Nachfolgend werden die wichtigsten Schwerpunkte für mögliche weitere Studien stichpunktartig zusammengefaßt:

- Schaffung einer TTD- und TTT-Variante von *Sansevieria trifasciata* und Vergleich mit 'Laurentii' (TDD-Variante) * Bleibt die starke Ausbildung L1-bürtigen Gewebes bestehen oder entsprechen die räumlichen Verhältnisse der DDD-Variante ? Ändert sich die Zellgröße bei einer TTT-Variante proportional im Vergleich zum diploiden Typ oder entspricht die Änderung der L1-bürtigen Zellen der bei 'Laurentii' stattfindenden ?
- Induktion weiterer Ploidiechimären (DTD-, DDT- und DTT-Formen) und Erfassung der histogenetischen Unterschiede zu DDD- und TTT-Formen * Wie ändern sich die Gewebeanteile der einzelnen Schichtabstammungen ? Gibt es Parallelen zu der bei TDD-Formen vorkommenden Veränderungen ? Führt die Existenz höherploidier innerer Schichten zu Perforationen und damit der Eliminierung diploiden Gewebes in der L1 oder bleiben die Schichten stabil ? Zur Erkennung der ablaufenden Prozesse sind WGG-Typen nicht geeignet. Es müssen hierfür andere Markierungen wie zum Beispiel GWG geschaffen werden.
- Erfassung der Gewebeverdrängung bei entgegengesetzten Chlorophylldefektmarkierungen für die Ermittlung der Konkurrenzwirkungen von grünem (nichtdefektem) zu weiß bzw. gelbem (chlorophylldefektem) Gewebe * Bildet sich bei einer GWG/TDD-Form von *Sansevieria trifasciata* das L1-bürtige Gewebe noch stärker aus als bei 'Laurentii' (WGG/TDD) ?
- Verbesserung der Qualität von Gewebeschnitten auf der Ebene des Sproßscheitels * Hauptproblem ist die Findung geeigneter Einbettungsverfahren, welche die Zellstrukturen so wenig wie möglich beeinflussen. Möglich ist auch die Nutzung von Laser-gesteuerter Schnitttechnik.
- Anzucht neuer Pflanzen von *Peperomia obtusifolia* aus L1-bürtigem Gewebe von 'Golden Gate', Weiterbehandlung solcher Pflanzen mit Chlorophylldefekt-induzierenden Mutagenen (NMH) zur Schaffung von GWG-Chimären * Stimmt der Phänotyp der so

gezüchteten Pflanzen mit dem von 'Golden Gate' überein ? Wenn ja, dann ist die starke Ausbildung des L1-bürtigen Gewebes bei 'Golden Gate' nicht durch einen (zusätzlich zur Farbmarkierung vorhandenen) genetischen Unterschied zwischen der L1 und inneren Schichten zu erklären.

6 ZUSAMMENFASSUNG

1. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Konkurrenzprozessen innerhalb des pflanzlichen Organismus. Quantitative Analysen der daraus resultierenden Verdrängungseffekte sind Hauptgegenstand der durchgeführten Untersuchungen. Die miteinander im Wettstreit stehenden Gewebe unterscheiden sich im Ploidiegrad, in ihrer Fähigkeit, funktionstüchtige Chloroplasten auszubilden oder in ihrem Genbestand.
2. *Peperomia obtusifolia* 'Golden Gate' besitzt trotz ungewöhnlich starker Ausbildung L1-bürtigen Gewebes keine höhere Ploidiestufe in dieser Schicht. Der Nachweis erfolgte über Chromosomenzählungen in L1-bürtigem Gewebe und Auswertung von Schnittbildern aus dem Bereich des Sproßscheitels.
3. Die genetische Konstitution "TDD" im Sproßscheitel von *Sansevieria trifasciata* 'Laurentii' konnte deutlich in Schnittbildern belegt werden. Damit werden die durch Chromosomenbestimmung gewonnenen Erkenntnisse von VOIGTSBERGER (1988) bestätigt.
4. Pflanzen mit chimärischer Struktur in ontogenetisch bedeutsamen Merkmalen wie Teilungsrichtung und Teilungsgeschwindigkeit entwickeln sich entsprechend der "resultierenden Verdrängungskraft". Die "Einzelkräfte" können wie bei 'Laurentii' in ihrer Wirkung entgegengerichtet sein.
5. Konkurrenz zwischen tetraploiden und diploiden Geweben führt bei 'Laurentii' zu einer Änderung des räumlichen Gleichgewichts, die phänotypisch an einem breiten L1-bürtigen Blattrandstreifen sichtbar ist. Für diese Form der Verdrängung wird der Terminus "Sporophytische Balancierung" eingeführt.

6. Die sporophytische Balancierung beruht auf der Größenzunahme aller L1-bürtiger Zellen, vor allem aber auf der höheren Anzahl L1-bürtiger Mesophyllzellen.
7. Der Prozeß der Gewebekonkurrenz bei 'Laurentii' findet seinen Wirkungsschwerpunkt während der Phase der Ausbildung der Blattanlagen.
8. Die höhere Ploidiestufe der L1 resultiert in den Epidermiszellen von 'Laurentii' in einer nichtproportionalen Ausdehnung. Eine Größenzunahme erfolgt bevorzugt nach den Richtungen, denen wenig Widerstand (durch benachbarte Zellen) entgegensteht.
9. Das verstärkte Auftreten perikliner Teilungen in der L1 bei 'Laurentii' bestätigt, daß die Einrichtung der Zellteilungsebene von äußeren Faktoren, vor allem vom äußeren Druck beeinflusst werden kann.
10. Über Ausnutzung von sporophytischer Balancierung läßt sich die vorhandene somaklonale Variabilität vieler Pflanzenarten beträchtlich erweitern. Bei vegetativer Vermehrung können neue Typen mit einer hohen Stabilität erhalten werden.

Literaturverzeichnis

BALKEMA, G.H.: Chimerismen and diplontic selection. - Wageningen, 1971

BALKEMA, G.H.: Diplontic drift in chimeric plants. - In: Radiat. Bot. 12 (1972). - S. 51-55

BERGANN, F.: Praktische Konsequenzen der Chimärenforschung für die Pflanzenzüchtung. -
In: Wissenschaftliche Zeitschrift der K.-M.-Universität Leipzig, Mathem.-
Naturwiss. Reihe. - Leipzig 4 (1954). - S.281-291

BERGANN, F.: Mutations-Chimären: Rohmaterial züchterischer Weiterbehandlung. - In:
Umschau in Wissenschaft und Technik. - Frankfurt a. Main 24 (1967). - S.
791-797

BERGANN, F.; L. BERGANN: Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes. 1. Über
Periklinalchimären bei *Peperomia* und ihre experimentelle Entmischung und
Umlagerung. - In: Biol. Zbl.. - Leipzig 101 (1982)4. - S. 485 - 502

BERGANN, F.; L. BERGANN: Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes. 2. Über
die Blattmusterbildung bei meso- und diektochimärischen Formen von
Peperomia-Arten, insbesondere über die Beteiligung des 'Dermatogens' an der
Mesophyllbildung. - In Biol. Zbl.. - Leipzig 102 (1983a)4. - S. 403 - 429

BERGANN, F.; L. BERGANN: Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes. 3. Über
unmaskierte Binnenfelder in den Blattspreiten periklinalchimärischer Buntheiten
von *Eleagnus pungens*, *Coprosma baueri*, *Ilex aquifolium*, *Hoya carnosa* und
Nerium oleander. - In: Biol. Zbl. - Leipzig 102 (1983b)6. - S. 657-673

BERGANN, F.; L. BERGANN: Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes. 4. Über
Periklinalchimären bei *Sedum rubrotinctum* R.T. Clausen. - In: Biol. Zbl. -
Leipzig 103 (1984a)1. - S. 147-171

- BERGANN, F.; L. BERGANN: Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes. 5. Über die Anlegung von Blättern und Blütenorganen im Lichte klassischer und moderner Histogeneseforschung. - In: Biol. Zbl. - Leipzig 103 (1984b)6. - S. 655-675
- BROERTJES, C.; A.M. VAN HARTEN: Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops. - Elsevier, Amsterdam, 1978
- BROERTJES, C.: Use in plant breeding of acute, chronic or fractionated doses of X-rays or fast neutrons as illustrated with leaves of *Saintpaulia*. - Doctoral thesis - Centre for Agricultural Publishing and Documentation - Wageningen, 1972 - ISBN 90 220 0389 2 - S. 9-12
- BROERTJES, C.; VAN HARTEN, A.M.: Applied Mutation Breeding for vegetatively propagated crops. - Elsevier Science Publisher B.V. - Amsterdam, 1988
- BUTTERFASS, T.: Ploidie und Chloroplastenzahl. - In: Ber. Dtsch. Bot. Ges. - Stuttgart 72(1959). - S. 440-451
- FREISLEBEN; A. LEIN: Vorarbeiten zur züchterischen Auswertung röntgeninduzierter Mutationen, I. und II. Z. Pflanzenzüchtung 35, 235, 255 (1943).
- GAUL, H.: Die verschiedenen Bezugssysteme der Mutationshäufigkeit bei Pflanzen, angewendet auf Dosis-Effektkurven. - In: Z. Pflanzenzüchtung. 38, (1957). - S. 63-76
- GAUL, H.: Über die Chimärenbildung in Gerstenpflanzen nach Röntgenbestrahlung von Samen. - In: Flora, 147 (1959). - S. 207-241.

- GOTTSCHALK, W.: Die Bedeutung der Polyploidie für die Evolution der Pflanze. - Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1976
- GOTTSCHALK, W.: Allgemeine Genetik. - Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York, 1984
- GUSTAFSSON, A.: The mutation system of the chlorophyll apparatus. - Lunds Univ. Arsskrift, N.F. Avd. 2, 36, 2 (1940).
- HAGEMANN, R.: Allgemeine Genetik. - VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1986. - S.156-179
- JUAN CHAHINIAN, B.: Variegation in Cultivated *Sansevierias*. - In: Haseltonia, 1 (1983) - S. 45-54
- JØRGENSEN, C.A.; M.B. CRANE: Formation and Morphology of *Solanum* Chimaeras. - In: Journal of Genetics Vol.18(29 - Cambridge University Press, 1927 - S. 247-273
- KAPLAN, R.W.: Chromosomen und Faktormutationsraten in Gerstenkörnern bei verschiedenartigen Quellungsbehandlungen oder Kälte während oder nach der Röntgenbestrahlung sowie bei Dosisfraktionierung. - In: Zeitschrift für induktive Abstammungs- u. Vererbgslehre. 83 (1951). - S. 347-382
- KELLY DAWE, R.; M. FREELING.: Cell lineage and its consequences in higher plants. - In: The Plant Journal 1(1) 1991. - S. 3-8
- KNY, L.: Über den Einfluß von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich theilenden Pflanzenzellen (zweite Mittheilung). - In: Jahrb. Wiss. Bot. 37 (1902). - S. 391-392

- LINTILHAC, P.M.: Differentiation, organogenesis, and tectonics of cell wall orientation. II.
 Separation of stresses in a two-dimensional model. - In: Amer. J. Bot. 61 (1974).
 - S. 135-140
- LINTILHAC, P.M.: Differentiation, organogenesis, and tectonics of cell wall orientation. III.
 Theoretical considerations of cell wall mechanics. - In: Amer. J. Bot. 61 (1974) -
 S. 230-237
- NEMEC, B.: Über die Kern- u. Zelltheilung bei *Solanum tuberosum*. - In: Flora, 86 (1899) -
 S. 216, 220 ff.
- NIEMEYER, H.: Ploidie-Untersuchungen an *Peperomia obtusifolia* nach Behandlung von
 Blattstecklingen mit dem Mutagen N-Nitroso-N-Methyl-Harnstoff, - 63-76
 Humboldt Universität zu Berlin, Diplomarbeit - unveröffentlicht - Berlin, 1991
- OLBRICHT, K.: Nachweis der chimärischen Konstitution einer transgenen *Petunia hybrida*
 Hort. - Humboldt Universität zu Berlin, Diplomarbeit - unveröffentlicht - Berlin,
 1994
- PEARY, J.S.; R.D. LINEBERGER; T.J. MALINICH; M.K. WERTZ: Stability of leaf variegation in
Saintpaulia ionantha during in vitro propagation and during chimera separation
 of a pinwheel flowering form. - In: Amer. J. Bot. 75(5) 1988 - S.603-608
- POHLHEIM, F.: Vergleichende Untersuchungen zur Änderung der Richtung der Zellteilungen
 in Blattepidermen. - In Biol. Zbl. - Leipzig 102(1983)3. - S. 323-336
- POHLHEIM, F.; RÖSSEL, K.: Partnerinduktion bei chimärischen Blatt- und Blütenfarbmustern
 von *Pelargonium*. - In: Tagungsbericht Akademie der
 Landwirtschaftswissenschaften der DDR. - Berlin, 1992 - S. 107-115

- ROMEIS, B. *et al.*: Mikroskopische Technik. Urban und Schwarzenberg, - 17. Aufl., - München/Wien/Baltimore, 1989
- RÖSSEL, K.: Genetische Markierungen zur quantitativen Musteranalyse an somatischen Varianten eines monohaploiden *Pelargonium*-Klones. - Dissertation Humboldt-Universität Berlin, - unveröffentlicht - Berlin, 1990
- RUPPRECHT, H.; E. MIEßNER: Zierpflanzenbau. - VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin, 1985 - 1. Aufl.
- SATINA, S.; A.F. BLAKESLEE: Periclinal chimeras in *Datura stramonium* in relation to development of leaf and flower. - In: Amer. J. Bot. 28 (1941). - S. 862 - 871
- SATINA, S.; A.F. BLAKESLEE; A.G. AVERY: Demonstrations of the three germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimeras. - In: Amer. J. Bot. 27 (1940). - S. 895-905
- STEWART, R.N.; P. SEMENIUK; H. DERMEN: Competition and accommodation between apical layers and their derivatives in the ontogeny of chimeral shoots of *pelargonium x hortorum*. - In: Amer. J. Bot. 61(1) 1974 - S. 54-67
- STRAßBURGER, E. *et al.*: Lehrbuch der Botanik. - Gustav-Fischer-Verlag, - 33. Aufl. - Stuttgart/Jena/New York, 1991
- TILNEY-BASSETT, R.A.E.: Plant Chimeras. - London, 1986
- VOIGTSBERGER, J.: Untersuchungen zur Klonvariabilität von *Sansevieria trifasciata* Prain. - Humboldt-Universität zu Berlin, Diplomarbeit - unveröffentlicht - Berlin, 1988
- WINKLER, H. : Chimären und Burdonen. - In: Der Biologe 9(1935).

ZANDER,R.: Handwörterbuch der Pflanzennamen. - Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 1984

Selbständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, daß die vorliegende Arbeit von mir selbst und nur mit Hilfe der angegebenen Literatur angefertigt wurde.

Berlin, am 30. Dezember 1995

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bedanken bei Prof. Dr. sc. Pohlheim für seine großzügige Förderung meiner Arbeit, den mir zugestandenen Freiraum bei der Verwirklichung eigener Ideen und der klärenden Gespräche über inhaltliche Fragen. Hervorzuheben ist auch seine Unterstützung für meinen Aufenthalt an der Texas A&M University, der mir für die Erstellung der quantitativen Analysen in dieser Arbeit sehr wertvoll war.

Den Mitarbeitern des Fachgebietes Pflanzenzüchtung / Köpenick gebührt Dank für ihre Arbeit bei der Betreuung der Versuche. Besonders erwähnen möchte ich die beispielhafte Einsatzbereitschaft von Frau Binting, die fachlich kompetent immer mit Rat und Tat zur Seite stand. Dr. Knuth sorgte durch die ständige Optimierung der Laboreinrichtung für gute Arbeitsbedingungen.

“Last, but not least“ schulde ich großen Dank den Diplom-Gartenbauingenieuren Sylvia Plaschil, Klaus Olbricht, Ralf Halbauer und Jens Wegner für die aufschlußreichen Gespräche und die kritische Durchsicht des Manuskripts.